

Otimização do Processo de Extração da Baba do Caracol *Helix Aspersa Máxima*

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em
Processos Químicos e Biológicos

Autor

Pedro Héber Victor Rebelo

Orientadores

Doutora Maria Nazaré Coelho Marques Pinheiro

Doutor Luís Miguel Moura Neves de Castro

Instituto Superior de Engenharia de Coimbra

Supervisor Externo

Engenheiro Nuno Cunha

MiranHélix - Criação e Comercialização de caracóis, Lda.

Coimbra, maio, 2016

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer aos meus Orientadores, Professora Doutora Maria Nazaré Coelho Marques Pinheiro e Professor Doutor Luís Miguel Moura Neves de Castro que possibilitaram a realização deste estudo e pela forma como orientaram a sua realização, dando todos os conselhos, indicações e orientações que me forneceram um maior conhecimento profissional e um conjunto de virtudes para a minha vida pessoal e profissional futura.

Agradeço, também, à Empresa *MiranHélix, Lda.* e em especial ao meu Supervisor Externo Engenheiro Nuno Cunha e esposa por toda a disponibilidade no fornecimento dos espécimes estudados e pela ajuda e orientação prestada durante todo o estudo fornecendo informação crucial não só sobre a helicicultura em geral, bem como do modo de funcionamento na sua empresa.

Gostaria de agradecer, especialmente, aos meus pais pelo apoio que me deram ao longo de todo o percurso académico, além do alento e a coragem que me proporcionaram.

Um agradecimento especial à minha namorada Vera Lopes por ter estado a meu lado e por me ter ajudado, dando ânimo nos momentos mais complicados.

Gostaria também de agradecer aos meus colegas e amigos mais próximos que estiveram disponíveis para ajudar.

Agradeço ainda ao Hugo Abreu pelo companheirismo prestado diariamente durante todo o estudo laboratorial, estando grato pela informação fornecida nos pequenos ajustes à realização do procedimento laboratorial.

Agradeço a todos os professores que sempre estiveram disponíveis e mostraram interesse e vontade em ensinar, de serem um exemplo a seguir e de me incentivarem a obter um conhecimento contínuo, mesmo na minha futura vida profissional.

De forma geral, gostaria de agradecer a todos os que me apoiaram e contribuíram para o desenvolvimento deste estudo.

RESUMO

O presente estudo laboratorial teve como objetivos principais a otimização da quantidade de alimentação, à base de ração, necessária para a sobrevivência de um caracol adulto da espécie *Helix aspersa máxima*, a otimização do tempo de extração de baba de caracol da mesma espécie, a determinação de um método para purificação da baba de caracol, a caracterização físico/química da baba de caracol extraída e, finalmente, a preparação de três produtos de cosmética, contendo baba de caracol. Concluiu-se que o processo de extração de baba de caracol com sucção a cada espécime e com adição de água destilada, apresenta um maior benefício a nível de produção de baba, com mínima interferência no bem-estar de cada espécime. Obteve-se um tempo ótimo de 9 minutos e 8 segundos para a extração estipulada. As análises realizadas revelam uma baba com pH ácido com uma gama de valores de 4,18 a 5,18. Obteve-se a massa volúmica de baba em função temperatura, para diferentes extrações realizadas. Verificou-se a viscosidade da baba diluída, em função da temperatura, obtendo a equação $\bar{\mu}_{\text{ensaios (EAHS)}} = -4,0 \times 10^{-4} \times T + 2,34 \times 10^{-2}$ e a equação $\bar{\mu}_{\text{ensaios (EBCF)}} = -3,0 \times 10^{-4} \times T + 1,76 \times 10^{-2}$, para dois conjuntos de amostras distintos. As amostras de baba, obtidas após o processo de filtração e centrifugação, apresentaram uma concentração proteica de $6,30 \text{ mg/mL} \pm 3,39 \text{ mg/mL}$ e uma concentração de açúcares totais de $5,82 \times 10^{-2} \text{ mg/mL} \pm 4,09 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$. Para amostras de baba de caracol, obtidas por um processo de extração de baba por sucção, obteve-se uma concentração de proteínas de $21,59 \text{ mg/mL} \pm 4,40 \text{ mg/mL}$ e $7,30 \times 10^{-2} \text{ mg/mL} \pm 3,85 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$, para a concentração de açúcares totais. Foram preparados três cosméticos e realizados testes de satisfação a esses produtos para incorporação a nível comercial. Foi, ainda, idealizado um processo de extração de baba de caracol à escala industrial.

Palavras-chave: Baba, Caracol, Cosmética, Extração.

Nota: Este documento foi escrito ao abrigo do novo acordo ortográfico.

ABSTRACT

The main objectives of the present laboratorial study were the optimization of food quantity required for the survival of the adult snail from *Helix aspersa máxima* species, the time optimization of the extraction process of snail slime from the same species, the determination of a purification method of snail slime, the physical and chemical analyses of the extracted snail slime and the preparation of three cosmetic products containing snail slime. The most effective extraction process with a minimum interference on the snail welfare is the foot suction of any specimen with the addition of distilled water during the extraction. The ideal time for the snail slime extraction is 9 minutes and 8 seconds. Analyses to the snail slime reveal a pH in the acid scale, with a value range of 4,18 to 5,18. It was obtained a density vs. temperature function from different extractions. The viscosity vs. temperature function from different samples of diluted snail smile result in the following equation $\bar{\mu}_{ensaios (EAHS)} = -4,0 \times 10^{-4} \times T + 2,34 \times 10^{-2}$ from diluted snail slime samples and the following equation $\bar{\mu}_{ensaios (EBCF)} = -3,0 \times 10^{-4} \times T + 1,76 \times 10^{-2}$ from the same samples after centrifugation and filtration. Analyses on the snail slime samples, exhibited a total sugar concentration of $7,30 \text{ mg/mL} \pm 3,85 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$ and a protein concentration of $21,59 \text{ mg/mL} \pm 4,40 \text{ mg/mL}$. After a process of centrifugation and filtration, the snail slime samples revealed a protein concentration of $6,30 \text{ mg/mL} \pm 3,39 \text{ mg/mL}$ and a total sugar concentration of $5,82 \times 10^{-2} \text{ mg/mL} \pm 4,09 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$. Three cosmetic products were prepared and was performed a survey measuring the satisfaction levels of users for commercial incorporation purposes. In addition, it was idealized an industrial scale-up model for a snail slime extraction process.

Key-words: Cosmetic, Extraction, Slime, Snail.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	1
1.1. Análise Comercial Internacional	2
1.2. Base Histórica da Utilização de Caracóis pela Humanidade	2
1.3. Caracterização do Caracol <i>Helix aspersa máxima</i>	4
1.4. Morfologia do Caracol <i>Helix aspersa máxima</i>	5
1.5. Ritmo biológico circanual e circadiano da espécie <i>Helix aspersa máxima</i>	8
1.6. Influência da Nutrição no Caracol <i>Helix aspersa máxima</i>	9
1.7. Metodologias para Obtenção da Baba de Caracol	9
1.8. Quantidade e Constituintes da Baba de Caracol	14
1.9. Análises Quantitativas à Baba de Caracol	15
1.10. Produtos de Cosmética com Baba de Caracol	16
1.11. Enquadramento do Presente Trabalho	19
CAPÍTULO 2 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	20
2.1. Considerações Iniciais	20
2.2. Otimização do Fornecimento da Alimentação à Base de Ração	23
2.3. Otimização da Extração e Purificação da Baba de Caracol	24
2.3.1. Processos de extração tradicionais	25
2.3.2. Processo de extração por sucção dos gastrópodes terrestres	26
2.3.3. Processo de extração por centrifugação dos gastrópodes terrestres	28
2.3.4. Processo de extração por sucção dos gastrópodes terrestres com adição de água durante o processo de extração	29
2.3.5. Extração de baba para realização de análises físico/químicas	32
2.3.6. Processo de purificação da baba extraída	32
2.4. Análises Físico/Químicas à Baba de Caracol	33
2.4.1. Determinação do pH da baba de caracol	33
2.4.2. Determinação da massa volúmica da baba de caracol	34
2.4.3. Determinação da viscosidade da baba caracol	34
2.4.4. Determinação da concentração de proteínas na baba extraída	36
2.4.5. Determinação da concentração de açúcares totais na baba extraída	37
2.5. Preparação dos Produtos de Cosmética	37
2.5.1. Preparação do creme nutritivo de mãos	38
2.5.2. Preparação do líquido hidratante	38
2.5.3. Preparação do creme antirrugas	38
CAPÍTULO 3 - ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS	39
3.1. Otimização do Fornecimento de Alimentação à Base de Ração	39
3.2. Otimização do Processo de Extração de Baba de Caracol	41
3.2.1. Extração de Baba de Caracol com auxílio de uma Vareta de Vidro	41
3.2.2. Extração de Baba de Caracol por Centrifugação	45
3.2.3. Extração de Baba de Caracol por Sucção do Espécime	50
3.2.4. Extração de Baba de Caracol por Sucção com Administração de Água Destilada, durante o Processo de Extração	53
3.2.5. Quantidade de Baba Produzida para Análises Físico/Químicas	57
3.2.6. Análise Comparativa de Baba Produzida em cada Processo de Extração estudado	59
3.3. Análise físico/química da Baba de Caracol	60
3.3.1. Determinação do pH	61
3.3.2. Determinação da Massa Volúmica	63

3.3.3.	Determinação da Viscosidade	65
3.3.4.	Determinação da Concentração de Proteínas	67
3.3.5.	Determinação da Concentração de Açúcares Totais	69
3.4.	Preparação de Produtos de Cosmética	72
3.5.	Testes de Satisfação aos Produtos de Cosmética	73
3.6.	“Scale-Up” do Processo de Extração	73
CAPÍTULO 4 - CONCLUSÃO		78
CAPÍTULO 5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		81
ANEXOS		86
A.	Materiais e Equipamentos Utilizados.....	86
B.	Fichas Técnicas da Alimentação à Base de Ração.....	90
C.	Consentimento Informado, Esclarecido e Livre.....	92
D.	Questionário de Satisfação	93
E.	Temperatura e Humidade Ambiente ao longo do Estudo	95
F.	Valores da Otimização do Tempo de Extração	95
G.	Otimização do Tempo de Extração de Baba por Sucção com Administração de Água Destilada, durante o Processo de Extração	108
H.	Processo de Extração de Baba	115
I.	Processo de Extração de Baba por Sucção, com Administração de Água Destilada ao Caracol, durante o Processo de Extração	116
J.	Extração de Baba para Análises Físico/Químicas	117
K.	Curva de Calibração das Proteínas.....	119
L.	Densidade Ótica obtida para a Determinação da Concentração de Proteínas na Baba de Caracol	122
M.	Curva de Calibração dos Açúcares Totais.....	125
N.	Densidade Ótica obtida para a Determinação da Concentração de Açúcares Totais na Baba	127
O.	Valores do Tempo de Escoamento no Viscosímetro Capilar	131
P.	Preparação do Excipiente utilizado nos Produtos de Cosmética	133
Q.	Valores de Preparação dos três Produto de cosmética	135

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Estrutura geral da rádula de um molusco, exemplificado para um gastrópode. e = esófago; m = boca; mx = mandíbula; o = odontóforo; op = músculo promotor do odontóforo; r = rádula; rp = músculo promotor da rádula; rr = músculo retrator da rádula (adaptado de Corgosinho <i>et al.</i> , 2010).....	5
Figura 1.2 – Morfologia externa e interna do caracol <i>Helix aspersa máxima</i> (adaptado de Mediavilla, 2008).....	6
Figura 2.1 – Aparência das caixas de confinamento (<i>Kit's</i>)	21
Figura 2.2 – Disposição no interior de cada caixa de confinamento (<i>Kit</i>) contendo as telas, os suportes metálicos das telas e o suporte de alimentação à base de ração.....	21
Figura 2.3 – Identificação de cada espécime com o papel numerado	22
Figura 2.4 – Ilustração do copo para postura de ovos e da caixa de incubação. 1= caixa de incubação; 2= copo para postura	24
Figura 2.5 – Esquema do sistema usado na extração da baba por aspiração ao nível do pé dos gastrópodes. 1= caracol; 2= base de suporte para o gastrópode; 3= rolha de cortiça perfurada; 4= tubo de conexão entre a bomba de vácuo e o balão de Büchner; 5= balão de Büchner; 6= tubo de sucção da baba; 7= bomba de vácuo; 8= garra de metal para fixar do balão de Büchner	27
Figura 2.6 - Esquema da montagem para a secagem da amostra de baba recolhida por sucção com hidratação dos caracóis. 1= bomba; 2= Proveta contendo sílica gel; 3= balão de Büchner com a amostra de baba.....	30
Figura 2.7 – Baba de caracol após o processo de secagem.....	31
Figura 2.8 – Baba de caracol obtida por sucção de um gastrópode terrestre, com adição de água destilada durante o processo	31
Figura 2.9 – Esquema do sistema utilizado para determinação da viscosidade da baba de caracol. 1= aparelho de regulação da temperatura do banho; 2= pera de sucção; 3= suporte dos viscosímetros; 4= termómetro analógico para controlo da temperatura; 5= viscosímetro capilar; 6= banho de água termoestatizado	35
Figura 3.1 – Diagrama de valores da massa acumulada de baba produzida e valores da perda de massa de cada espécime, em função do tempo de extração, para o processo de extração de baba de caracol, com auxílio de uma vareta de vidro (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes).....	43
Figura 3.2 – Diagrama da massa perdida por cada espécime e massa acumulada de baba de caracol produzida em função do tempo de extração, para otimização do tempo de extração de baba por centrifugação (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes)	47
Figura 3.3 – Ilustração do problema da desunião do manto à concha provocada pelo processo de extração por centrifugação. 1= suporte para centrífuga; 2= manto do espécime solto	48
Figura 3.4 – Diagrama de valores da massa perdida por espécime e da massa acumulada de baba produzida, em função do tempo de extração, a cada minuto, para otimização do tempo de extração por sucção (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes)	51
Figura 3.5 – Diagrama de valores médios de perda de massa de cada espécime estudado e massa acumulada de baba produzida, em função do tempo de extração, para cada minuto de extração de baba por sucção, com adição de água destilada, durante o processo de extração (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes)	55
Figura 3.6 – Diagrama de extremos e quartis para a média de valores de pH, obtidos para cada ensaio (EAHS), (EBCF) e (EB).....	62
Figura 3.7 – Gráfico dos valores médios de massa volúmica em função da temperatura para os ensaios (EAHS) e (EBCF).....	63
Figura 3.8 – Gráfico da média aritmética de massa volúmica para o conjunto de ensaios (EBCF) em função da temperatura	64

Figura 3.9 – Gráfico da média de viscosidade para o conjunto de ensaios (EAHS) e (EBCF), em função da temperatura	66
Figura 3.10 – Produtos de cosmética preparados, contendo baba de caracol. 1 = creme nutritivo de mãos; 2 = líquido hidratante para limpeza da pele normal ou oleosa; 3 = creme antirrugas	72
Figura 3.11 – Caixa de confinamento dos gastrópodes terrestres para incorporação no processo de extração. 1=tampa da caixa de confinamento em rede, 2= laterais de suporte da caixa nos rolamentos do processo (adaptado de Colognesi <i>et al.</i> , 2013)	74
Figura 3.12 – Visão lateral pormenorizada do segundo setor para o processo de extração de baba com sucção dos espécimes e adição de água destilada durante o processo de extração. 1= coluna de destilação para produção da água destilada, 2= tanque de armazenamento da água destilada, 3= bomba hidráulica para fornecimento de água destilada aos pulverizadores, 4= caixa de confinamento, 5= rolamentos, 6= funil, 7= microfiltro, 8= compartimento de recolha de baba de caracol, 9= pulverizadores, 10= microfuros para impedimento do vácuo no setor, 11= bomba de vácuo para sucção (adaptado de Colognesi <i>et al.</i> , 2013) ...	76
Figura 3.13 – Visão frontal de todo o processo de extração de baba de caracol com sucção dos espécimes e com adição de água destilada durante o processo de extração. 1= Contentor com água proveniente da rede pública, 2= Primeiro setor, 3= Segundo setor, 4= Terceiro setor (adaptado de Colognesi <i>et al.</i> , 2013).....	77
Figura 3.14 – Esquema de incorporação de três processos de extração na horizontal, para cada setor. 1= Setor, 2= Primeiro processo de extração, 3= Segundo processo de extração, 4= Terceiro processo de extração	77
Figura B.1 – Ficha técnica da primeira alimentação à base de ração	90
Figura B.2 – Ficha técnica da segunda alimentação à base de ração	91
Figura C.1 - Consentimento informado, esclarecido e livre para questionário de satisfação dos produtos de cosmética	92
Figura D.1 – Primeira página do questionário de satisfação sobre os produtos de cosmética contendo baba de caracol	93
Figura D.2 – Segunda página do questionário de satisfação sobre os produtos de cosmética contendo baba de caracol	94
Figura E.1 – Diagrama com os valores de temperatura e humidade registados ao longo do estudo	95
Figura F.1 – Diagrama das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios de otimização com vareta de vidro, para os ensaios de (OV1) a (OV8)	103
Figura F.2 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração por centrifugação, relativos aos ensaios descritos por (OC1) a (OC8)	105
Figura F.3 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios denominados por (OA1) a (OA8)	107
Figura G.1 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios (OAH1) a (OAH8)	113
Figura K.1 – Curva de calibração da densidade ótica a 595 nm em função da concentração de albumina de soro bovino	121
Figura M.1 – Curva de calibração da densidade ótica a 490 nm em função da concentração de glucose ...	126

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Principais características de caracóis do Género <i>Helix</i> (adaptado de Haddad, 2004).....	7
Tabela 3.1 – Valores de massa de alimentação, à base de ração, por número de caracol e por massa de caracol, para as primeiras onze semanas do estudo de otimização do fornecimento de alimentação	39
Tabela 3.2 – Média e desvio padrão da massa acumulada de baba produzida e da perda de massa de oito	
Tabela 3.3 – Valores do tempo ótimo obtido para cada ensaio realizado com extração de baba através de uma vareta de vidro	44
Tabela 3.4 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida bem como média, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos pela extração com auxílio de uma vareta de vidro, durante 10 minutos	45
Tabela 3.5 – Média e desvios padrão da massa de baba de caracol produzida e perda de massa de cada espécime, a cada minuto, para otimização do tempo de extração de baba de caracol, por centrifugação	46
Tabela 3.6 – Valores do tempo ótimo obtido para cada ensaio realizado com extração de baba, por centrifugação	47
Tabela 3.7 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida, bem como média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos por extração de baba por centrifugação, durante 10 minutos	49
Tabela 3.8 – Média e desvios padrão da massa acumulada de baba produzida e de perda de massa de cada espécime, a cada minuto de extração, para otimização do tempo de extração de baba de caracol, por sucção ao nível do pé de oito espécimes	50
Tabela 3.9 – Valores do tempo ótimo para cada ensaio realizado com extração de baba, por sucção	51
Tabela 3.10 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida, bem como média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos pela extração de baba por sucção, durante 10 minutos a cada espécime	52
Tabela 3.11 – Médias e desvios padrão da massa acumulada de baba produzida e de perda de massa de cada espécime, a cada minuto de extração de baba de caracol, por sucção, com adição de água destilada a cada espécime estudado, durante o processo	54
Tabela 3.12 – Tempo ótimo de extração de baba por sucção com adição de água destilada, a cada ensaio realizado	55
Tabela 3.13 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida, bem como média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos pela extração por sucção, com adição de água destilada, durante 10 minutos.....	56
Tabela 3.14 - Valores das medidas de tendência central e medidas de dispersão para a obtenção de baba por sucção com administração de água destilada ao processo, obtida para realização de análises físico/químicas à baba extraída.....	58
Tabela 3.15 - Valores das medidas de tendência central e valores de medidas de dispersão para a obtenção de baba de caracol pelo processo de extração de sucção a cada espécime, durante dez minutos, com o intuito de análises físico/químicas à baba	59
Tabela 3.16 – Valores da média da massa de baba produzida, massa perdida por cada espécime e razão mássica, com os respetivos desvios padrão, em todos os processos de extração de baba realizados ao longo do estudo laboratorial	60
Tabela 3.17 – Valores das medidas de tendência central e medidas de dispersão para a média aritmética dos valores de pH, obtidos em triplicado, para cada ensaio (EAHS), (EBCF) e (EB)	61
Tabela 3.18 – Valores da média e desvio padrão de massa volúmica, a diferentes temperaturas, para três conjuntos de ensaios	63
Tabela 3.19 – Valores da média de viscosidade, a diferentes temperaturas, para o conjunto de ensaios (EAHS) e (EBCF).....	65

Tabela 3.20 – Valores das concentrações de proteínas presentes no volume de 0,1 mL na baba de caracol nos ensaios (EBCF).....	67
Tabela 3.21 – Valores das concentrações de proteínas presentes no volume de 0,1 mL de baba de caracol, para os ensaios (EB)	68
Tabela 3.22 – Valores das concentrações de açúcares presentes no volume de 0,5 mL na baba de caracol nos ensaios (EBCF).....	70
Tabela 3.23 – Valores das concentrações de açúcares totais presentes no volume de 0,5 mL de baba, nos ensaios (EB)	71
Tabela 3.24 – Respostas de cada participante ao questionário de satisfação	73
Tabela A.1 – Materiais de vidro utilizados ao longo de toda a atividade laboratorial	86
Tabela A.2 – Equipamentos e restantes materiais utilizados ao longo de toda a atividade laboratorial	87
Tabela A.3 – Reagentes utilizados para realização do estudo	89
Tabela F.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração e data para os três conjuntos de otimização do tempo de extração de baba de caracol realizados.....	95
Tabela F.2 – Massas perdidas por espécime, para otimização do tempo de extração, de três conjuntos diferentes	96
Tabela F.3 – Massas parciais de baba de caracol, após a otimização do tempo de extração de baba.....	98
Tabela F.4 – Massas acumuladas de baba produzida, para otimização do tempo de extração, para três conjuntos	99
Tabela F.5 – Diferença entre os valores de massa perdida pelo espécime e os valores de massa acumulada de baba produzida, para os quatro conjuntos de ensaios realizados durante a otimização do tempo de extração de baba	101
Tabela G.1 - Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração e data da otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção de cada espécime com adição de água destilada durante o processo de extração	109
Tabela G.3 – Valores das massas perdidas por cada espécime em cada ensaio realizado para otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção, com adição de água destilada a cada espécime, durante o processo de extração.....	110
Tabela G.4 – Valores calculados das massas parciais de baba de caracol, após a otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção de cada espécime, com adição de água destilada durante o processo.....	111
Tabela G.5 – Massas acumuladas de baba, após a otimização do tempo de extração por sucção, com adição de água destilada	111
Tabela G.6 – Diferença entre os valores de massa acumulada de baba produzida e os valores de massa perdida pelo espécime, para otimização do tempo de extração de baba obtida por sucção a cada espécime estudado, com adição de água destilada durante o processo de extração	112
Tabela G.7 – Valores da massa de água evaporada durante a secagem e o tempo do processo de secagem	112
Tabela H.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, quantidade de baba produzida e data do processo de extração de baba de caracol através de três metodologias diferentes	115
Tabela I.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, quantidade de baba produzida e data do processo de extração de baba de caracol por sucção, com adição de água destilada, a cada espécime estudado	117

Tabela J.1 - Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, massa de baba produzida, massa perdida pelo espécime e data do processo de extração de baba de caracol, com 10 minutos de extração, através de sucção com adição de 4,0 mL água destilada a cada espécime estudado, para posteriores análises físico/químicas à baba extraída.....	118
Tabela J.2 – Valores do tempo inicial de extração, a temperatura e a humidade ambiente, quantidade de baba produzida e dada de extração de baba por sucção de cada espécime, para posterior realização de análises físico/químicas à baba obtida.....	119
Tabela K.1 – Valores de densidade ótica a 595 nm e da concentração de albumina de soro bovino para representação da curva de calibração de proteínas	121
Tabela L.1 – Valores das densidades óticas para determinação de proteínas na baba de caracol e respetivas diluições, realizadas em triplicado, para as amostras de baba identificadas por (EBCF)	122
Tabela L.2 – Valores das densidades óticas para determinação da concentração de proteínas presentes na baba de caracol, com as respetivas diluições, para os ensaios obtidos por sucção, identificados por (EB)	124
Tabela M.1 – Valores das densidades óticas a 490 nm e das concentrações de glucose	127
Tabela N.1 – Valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respetivas diluições, realizadas em triplicado, dos ensaios de baba identificados por (EBCF)	128
Tabela N.2 – Valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respetivas diluições, realizadas em duplicado, dos ensaios de baba identificados por (EB).....	130
Tabela O.1 – Valores da temperatura e tempo de escoamento para o conjunto de amostras de baba, identificados por (EAHS), a diferentes temperaturas, para cada viscosímetro capilar utilizado	131
Tabela O.2 – Valores da temperatura e tempo de escoamento para o conjunto de amostras de baba, identificados por (EBCF), a diferentes temperaturas, para cada viscosímetro capilar utilizado.....	132
Tabela P.1 – Valores necessários e utilizados para preparação do excipiente, para preparação nos produtos de cosmética	134
Tabela Q.1 – Valores das massas e volumes utilizados na preparação de um creme nutritivo de mãos, considerando a água destilada contida nas amostras de baba, com base na elaboração apresentada na literatura (Abad, 1996; Wang <i>et al.</i> , 2010)	135
Tabela Q.2 – Valores das massas e volumes utilizados na preparação de um líquido hidratante, considerando a água destilada nas amostras de baba, com base na elaboração apresentada por Abad e Wang (Abad, 1996; Wang <i>et al.</i> , 2010)	136
Tabela Q.3 – Valores das massas e volumes utilizados para preparação de um creme antirrugas, considerando a água destilada nas amostras de baba, com base na elaboração apresentada por Abad e Wang (Abad, 1996; Wang <i>et al.</i> , 2010)	136

SIMBOLOGIA

C – Concentração;

cv – Coeficiente de variação;

K – Constante do viscosímetro;

L – Comprimento;

m – Massa;

s – Desvio Padrão;

T – Temperatura;

t – Tempo;

V – Volume;

\bar{x} – Média;

$[X]$ – Concentração do componente X;

μ - Viscosidade dinâmica;

ρ – Massa volúmica;

ABREVIATURAS

ABS – Albumina de soro bovino;

AGE – Produtos finais de glicosilação avançada;

CAS – Número de identificação de uma substância química, estipulado por *Chemical Abstracts Service*;

D. O. – Densidade Ótica;

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético;

F.Q. – Fórmula Química;

HR – Humidade Relativa;

IARC - Agência Internacional para Investigação do Cancro;

LDPE – Polietileno de Baixa Densidade;

N. V. – Não Verificado;

Nº ou n° - Número;

PEG – Polietilenoglicol;

PET – Politereftalato de etileno;

pH – potencial hidrogeniônico;

PLC – Controlo Lógico Programável;

S. O. – Sem Ocorrência;

WHO – Organização Mundial de Saúde.

1. INTRODUÇÃO

A humanidade sempre apresentou uma tendência para o cuidado com a beleza e o seu bem-estar. Esta busca pela beleza tem obcecado a humanidade por mais de cem mil anos, e o corpo humano é o seu meio preferido para evidenciar tal inquietação. A procura por um corpo ideal é um processo contínuo que existe desde a pré-história (Picq *et al.*, 2009).

O modelo do corpo visível em representações nas mais diferentes formas de arte, o uso das cores, penteados e ornamentos, a nudez, o vestuário, a variedade extravagante destes sinais constitui uma linguagem que revela uma identidade cultural, uma afirmação de gênero, idade e condição social de um indivíduo em harmonia com a sociedade (Picq *et al.*, 2009).

Com uma conjuntura mundial onde a preocupação pela saúde e bem-estar populacional incita a uma melhoria progressiva na investigação científica, torna-se indispensável o desenvolvimento de áreas tecnológicas como a cosmética e sobretudo a farmacêutica para esse fim. Estas tecnologias têm sofrido diversas alterações ao longo do tempo, apresentando avanços e recuos na sua aplicabilidade (Bonnemain, 2005). Desde os tempos primórdios que o homem utiliza produtos ou subprodutos naturais provenientes da fauna e flora mundial em proveito próprio (Bonnemain, 2005). Com o avanço da tecnologia esses produtos foram purificados e refinados de forma a melhorarem a saúde (Bonnemain, 2005).

A nível cosmético, são vulgarmente utilizados tanto produtos naturais como sintéticos. Dois dos produtos sintéticos mais utilizados são a glicerina (Bonnemain, 2005) e os parabenos devido às suas capacidades antissépticas, apesar de este último apresentar uma toxicidade em certos casos, devendo ser controlada a sua dosagem (Routledge *et al.*, 1998).

Entre os produtos naturais utilizados, normalmente apresentam maior destaque, o gel produzido através das células parenquimáticas das folhas da planta *Aloe Vera* (Grindlay e Reynolds, 1986), a secreção ou muco¹ de caracol, também denominada por baba de caracol (Abad, 1996; Wang, *et al.*, 2010; Mubarack *et al.*, 2013), o colagénio obtido a partir do peixe-balão (Tetraodontidae) (Song e Lee, 2013), o veneno segregado pelas glândulas salivares de cobras ou *Syn-Ake*, um pseudo péptido que imita o veneno de cobra (Song e Lee, 2013) e o veneno produzido pelo ferrão de abelhas e de vespas (Habermann, 1972).

Contudo, os dois últimos produtos mencionados, apesar de apresentarem valores terapêuticos relativamente convincentes, são misturas altamente complexas contendo agentes ativos tanto farmacologicamente como bioquimicamente de difícil obtenção face ao processo de extração da baba de caracol (Habermann, 1972; Song e Lee, 2013).

¹ O termo “mucus” é o mais usual na designação da segregação viscosa de um molusco, sendo o termo no entanto sem significado preciso (Campion, 1961).

A própria utilização de produtos provenientes de *Aloe Vera* é neste momento controversa, visto que a Organização Mundial de Saúde (WHO) em conjunto com a Agência Internacional para Investigação do Cancro (IARC), divulgaram que existe a possibilidade de todo o extrato proveniente da folha de *Aloe Vera* ser carcinogénico (Stewart *et al.*, 2015).

O uso da secreção mucosa de gastrópodes terrestres, ou também referido como baba de caracol, tem tomado um relevante interesse científico por se tratar de um produto natural, sem desvantagens consideráveis na sua obtenção, purificação e com propriedades medicinais, tais como a reparação e regeneração da pele humana (Mediavilla, 2008).

1.1. Análise Comercial Internacional

As utilizações tradicionais dos gastrópodes terrestres intensificaram-se nos últimos tempos. Como exemplo, pode referir-se que, atualmente, em França e na Alemanha, dois dos grandes produtores de caracóis do hemisfério norte, existe uma intensificação da criação de caracóis como base para preparações cosméticas (Espinoza e Schwartzman, 2007).

A Colômbia é o país onde os principais centros de cosmetologia se situam e onde se desenvolve toda uma geração de produtos contendo baba extraída de diversos tipos de gastrópodes terrestres. Os preços praticados na venda da baba variavam, em 2007, desde 102 € e 176 € por litro de baba produzida, dependendo da pureza da mesma, da quantidade de alantoína presente e da percentagem de água (Espinoza e Schwartzman, 2007).

Um outro exemplo dos preços praticados é referido por Mediavilla, em 2008, que indica que a marca *Pro-Lham*[®], produzida e distribuída pela empresa chilena *MAPRIN LTDA*, que extrai a baba de caracol a nível laboratorial, apresentou um lucro na ordem dos 213 € por litro de baba (Mediavilla, 2008). Os cálculos de conversão de moeda foram admitidos com o valor do euro a valer \$ 680 pesos chilenos (Espinoza e Schwartzman, 2007).

Apesar de a helicultura ter apresentado um desenvolvimento comercial nas últimas décadas do século XX, sendo reconhecida como tal em Portugal, com legislação específica desde 2007 (Gabriel, 2013), não existem dados concretos de produção ou comercialização de baba de caracol no país. A resposta dos helicultores indica que o setor ainda está numa fase de reconhecimento (Gabriel, 2013). Contudo, é reconhecido que existe uma vantagem comercial na sua produção e comercialização, não só em Portugal, mas a nível mundial.

1.2. Base Histórica da Utilização de Caracóis pela Humanidade

A utilização de caracóis na alimentação, na medicina, na farmacêutica e até mesmo na cosmética remonta aos tempos pré-históricos, onde os povos Romanos e os Gregos os preparavam de acordo com as suas necessidades (Bonnemain, 2005; Gabriel, 2013).

Na época, presumia-se que as propriedades terapêuticas dos gastrópodes terrestres provinham da sua força que permite suportar todo o corpo numa qualquer superfície inclinada. Conjeturava-se, que tinham propriedades curativas na infertilidade feminina.

Presume-se que o próprio Hipócrates tenha proposto a baba de caracol na prevenção da dor, de queimaduras e de outras lesões na pele (Bonnemain, 2005; Mubarak *et al.*, 2013).

Só no século XIX, surgiu um novo interesse na aplicação de caracóis para fins medicinais e para a indústria farmacêutica. A diversificação na sua utilização foi desde a cura de hérnias, expetorações, gastrites, varíola, doenças pulmonares, tal como, pneumonias, existindo dados que relatam que alguns físicos de renome como Chestien, Pourché, Legrand, Simon e Flint usaram caracóis no combate à tuberculose (Bonnemain, 2005).

Em 1817, o *Novo Dicionário de História Natural* mencionava que era recomendável o uso de caracóis através de um caldo para a garganta ou contato direto na pele de indivíduos do sexo feminino, de modo a manter a superfície suave e brilhante (Bonnemain, 2005).

Posteriormente, no século XX surgem diversas publicações científicas indicando que o uso terapêutico de caracóis não tinha cessado. Em 1953, Quevauviller descreveu pela primeira vez a constituição e propriedades da baba de caracol. Quevauviller divulgou, ainda, o primeiro modo industrial de extração de baba de caracol. Quevauviller revelou que essa secreção obtida continha agentes ativos inibidores de bactérias de *Brolet* e *Gaugon*, além de ser preponderante na prevenção de espasmos do trato respiratório (Bonnemain, 2005).

Em 1999, Pons demonstrou que a secreção obtida de gastrópodes terrestres continha propriedades bronco-relaxativas. Os autores do estudo concluíram, ainda, que o efeito da baba de caracol na traqueia estava parcialmente relacionado com a libertação de uma prostanoide relaxante, designada por prostaglandina E_2 (Bonnemain, 2005).

Outros cientistas interessaram-se pela lectina, uma proteína produzida por algumas espécies de gastrópodes terrestres e usada como indicador no prognóstico de metástases de cancros, tais como, da mama, do estômago e do cólon (Bonnemain, 2005).

Recentemente, investigadores examinaram a esperança de vida de indivíduos que ingeriam caracóis no seu dia-a-dia. Esse estudo, realizado em sete países diferentes, revelou que a taxa de mortalidade diminuiu consideravelmente, existindo uma menor incidência em casos de doenças cardiovasculares (Bonnemain, 2005).

Na ilha de Creta, na Grécia, o estudo revelou que ocorreram menos 20 mortes na ilha por doenças cardiovasculares, comparativamente com indivíduos residentes nos Estados Unidos da América (Bonnemain, 2005). Entre as explicações encontradas para a justificação de tal facto, presume-se que a diminuição no número de mortos se encontra correlacionada com a alimentação praticada na ilha de Creta, baseada em larga escala na ingestão de produtos e subprodutos à base de gastrópodes terrestres (Bonnemain, 2005).

A história mostra que o homem sempre teve uma relevante preocupação na utilização de gastrópodes terrestres, não só para consumo alimentar, mas principalmente para usufruir das suas propriedades biológicas e terapêuticas surpreendentes.

1.3. Caracterização do Caracol *Helix aspersa máxima*

De acordo com a taxonomia dos gastrópodes de Bouchet e Rocroi, em 2005, as espécies de gastrópodes terrestres pertencem à Subclasse *Pulmonata*, da Classe *Gastropoda*, do Filo *Mollusca*, sendo comumente designados por gastrópodes pulmonados terrestres (Hickman *et al.*, 2001; Poppe e Tagaro, 2006; Gabriel, 2013). Os caracóis dividem-se em variadas espécies, no entanto, a espécie *Helix aspersa máxima* é atualmente a espécie mais comum na helicultura, em conjunto com a espécie *Helix pomatia* (Gabriel, 2013).

Não existe um consenso na sua taxonomia apresentando várias designações como: *Cantareus aspersus*, *Helix aspersa máxima*, *Cornu aspersum* e ainda *Cornu copiae* (Welter-Schultes *et al.*, 2013). Em 2013, Welter-Schultes propôs no jornal *Bulletin of Zoological Nomenclature* uma alteração na taxonomia para minimização de ambiguidades em estudos futuros. Neste contexto, o nome mais apropriado, de acordo com as especificações da espécie, seria *Cryptomphalus* (Welter-Schultes *et al.*, 2013).

No entanto, por convenção a espécie será denominada de *Helix aspersa máxima* ao longo deste documento, visto tratar-se da taxonomia mais aceite pela comunidade científica (Skingsley *et al.*, 2000; Madoz-Escande e Simon, 2006; Gabriel, 2013).

A espécie de caracol *Helix aspersa máxima* é originária do continente europeu, mais propriamente do Reino Unido e costa do Mediterrâneo (Mediavilla, 2008). Apresenta, contudo, uma disseminação geográfica a nível mundial, devido às viagens marítimas realizadas desde as descobertas até às colonizações. Esta espécie popularizou-se nos sistemas de produção franceses pela sua rentabilidade (baixo custo de produção, facilidade de adaptação climática e elevada taxa de crescimento anual) (Haddad, 2004; Gabriel 2013).

Em 2000, Bába comparou a produção de baba entre as principais espécies de lesmas com cinco espécies de caracóis. No seu estudo, Bába comprovou que as lesmas estudadas apresentam uma maior produção de baba, mas que é justificada pela maior percentagem de água na sua constituição, contendo menos produção de agentes ativos (Bába, 2000).

Nesse estudo não foi englobada a espécie *Helix aspersa máxima*, mas uma muito similar, a *Helix pomatia*, que é uma das espécies que mais secreção produz de entre as cinco espécies de caracóis estudadas por Bába (Bába, 2000). Já Gabriel, em 2011, revelou na sua publicação que a espécie *Helix aspersa máxima* produz maior quantidade de baba que a espécie *Helix pomatia* (Gabriel *et al.*, 2011). Assim, para além de a espécie *Helix aspersa máxima* ser a espécie mais utilizada na helicultura, é, também, a que mais baba produz.

No entanto, tal como revelou Champion em 1961, e constatou Bába em 2000, não é só a quantidade de muco produzido pela espécie que tem relevância, mas também os componentes que a constituem (Campion, 1961; Bába, 2000).

1.4. Morfologia do Caracol *Helix aspersa máxima*

A anatomia dos caracóis, e em particular da espécie *Helix aspersa máxima*, pode ser dividida em duas partes: a anatomia externa e a anatomia interna. A anatomia externa é composta pelo miolo e concha. A cabeça é provida de uma boca e dois pares de tentáculos constituídos por um par telescópico de maiores dimensões, onde nas extremidades se encontram os olhos com uma capacidade visual escassa (Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013).

Abaixo destes, ao nível do ventre do espécime, o segundo par de tentáculos apresentam menores dimensões e capacidade tátil (Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013). A cabeça contém, ainda, a boca situada abaixo dos dois pares de tentáculos que possui um órgão peculiar denominado rádula (Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013). Na Figura 1.1 encontra-se apresentado, em esquema, o movimento do órgão rádula.

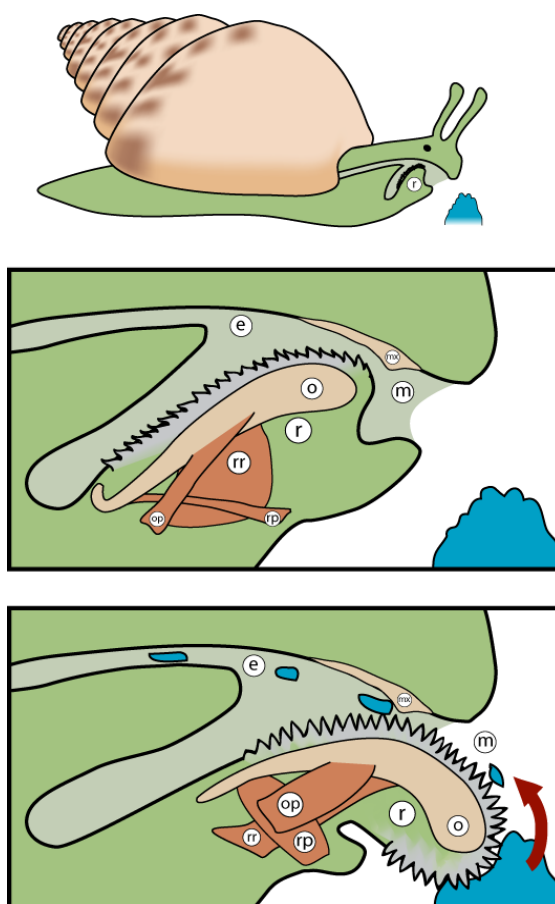


Figura 1.1 - Estrutura geral da rádula de um molusco, exemplificado para um gastrópode. e = esófago; m = boca; mx = mandíbula; o = odontóforo; op = músculo promotor do odontóforo; r = rádula; rp = músculo promotor da rádula; rr = músculo retrator da rádula (adaptado de Corgosinho *et al.*, 2010).

A rádula, é semelhante a uma língua com vários filamentos de pequenos dentículos que possuem uma dupla função (Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013). A primeira função deste órgão é raspar os alimentos contra a faringe, de forma a produzir pequenas partículas mais fáceis de ingerir, apresentando, ainda, a função transportadora por contração dos músculos do órgão mastigador, levando os alimentos num fluxo ondulatório contínuo até ao trato digestivo (Hickman *et al.*, 2001; Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013).

O pé de um gastrópode terrestre é considerado o órgão ventral que se encontra unido à cabeça. Este órgão é constituído por um músculo que promove a locomoção do espécime através de contrações musculares em movimentos ondulatórios e apresenta a capacidade de aderência e fixação a diferentes superfícies (Campion, 1961; Mediavilla, 2008).

A locomoção e a aderência são facilitadas pela baba do caracol, produzida pelas células epiteliais que constituem o pé, diminuindo o atrito e formando uma película por onde o caracol poderá deslizar (Campion, 1961; Hickman *et al.*, 2001). Este muco é produzido por glândulas situadas ao longo do pé, mais especificamente por uma grande glândula situada abaixo da boca, que pode ser visualizada na Figura 1.2 (Mediavilla, 2008).

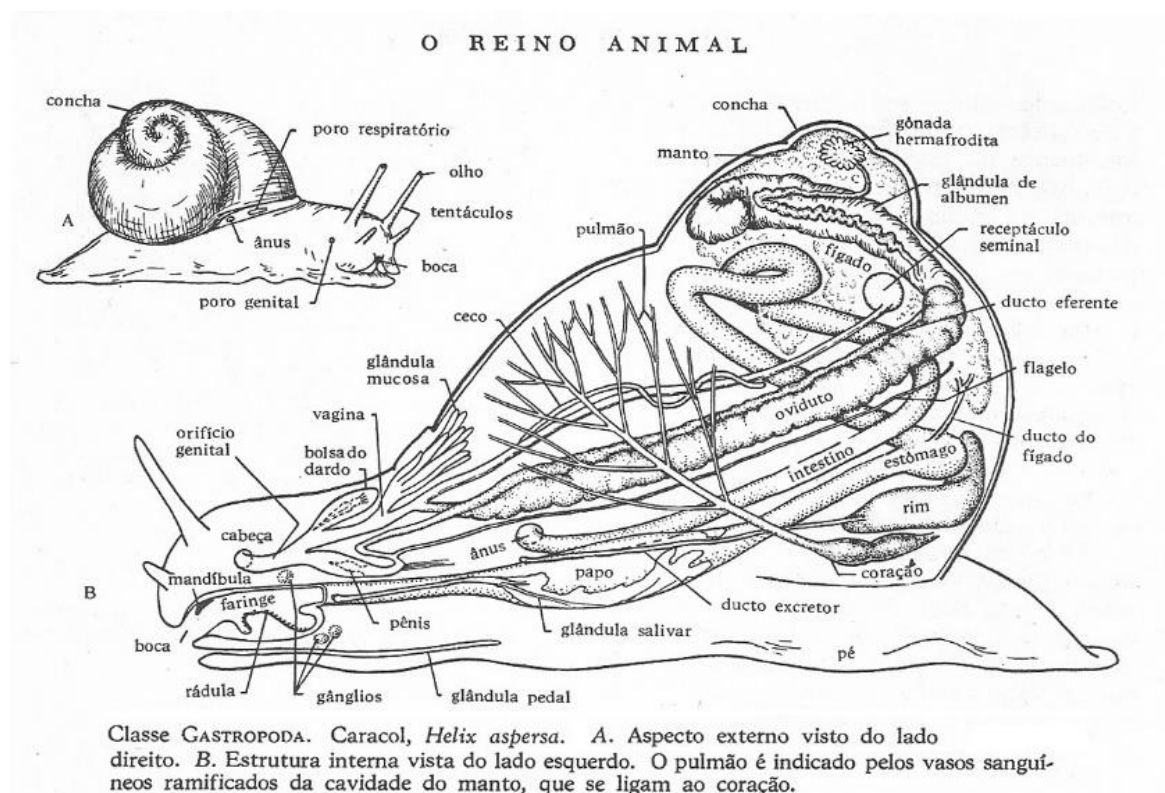


Figura 1.2 – Morfologia externa e interna do caracol *Helix aspersa máxima* (adaptado de Mediavilla, 2008).

A concha encontra-se acima do pé do caracol. É segregada pela camada exterior do manto, uma membrana delgada na superfície dorsal que suporta a matéria visceral no interior da concha. Comummente, a concha dos gastrópodes terrestres apresentam três capas.

A capa exterior que se encontra em contato com a concha designa-se de perióstraco. O perióstraco apresenta o aspeto córneo e tem uma função protetora das membranas subjacentes a ataques externos (Mediavilla, 2008). A capa intermédia, denominada prismática, é composta de aglomerados de cristais de carbonato de cálcio englobados numa matriz proteica (Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013). A capa interna encontra-se agregada ao manto. A cavidade do manto é particularmente vascularizada segregando continuamente as três capas constituintes da concha e favorecendo a respiração dos gastrópodes terrestres com movimentos de contração (Mediavilla, 2008; Gabriel, 2013).

Relativamente à anatomia interna dos caracóis, pode-se considerar que o material visceral é constituído pelo sistema respiratório, sistema digestivo, sistema circulatório, sistema reprodutor, sistema excretor, sistema nervoso e sistema sensorial. Como a espécie *Helix aspersa máxima* pertence à Ordem Pulmonata, apresenta um pulmão sem presença de brânquias, fazendo a ligação diretamente a uma rede de pequenos vasos sanguíneos. O ar entra através das contrações do manto por um orifício ou poro respiratório localizado à direita do corpo, designado pneumóstoma (Mediavilla, 2008).

O sistema nervoso é formado por gânglios cerebrais, gânglios pedais, gânglios pleurais, gânglios viscerais e cordões que se dirigem a todos os órgãos do corpo (Haddad, 2004).

As dimensões e características específicas da espécie *Helix aspersa máxima* foram estudadas por Aubert e coautores em 1998, encontrando-se apresentadas na Tabela 1.1.

Tabela 1.1 – Principais características de caracóis do Género *Helix* (adaptado de Haddad, 2004).

	<i>Helix pomatia</i>	<i>Helix aspersa máxima</i>	<i>Helix Lucorum</i>	<i>Helix Cincia</i>	<i>Helix Adanensis</i>
Nome comum	<i>Caracol de Borgonha</i>	<i>Grande Cinza</i>	<i>Caracol Turco</i>	<i>Caracol Grego</i>	<i>Caracol de Adana</i>
Tamanho da concha (mm)	40-45	45-47	45-55	40	35-..
Peso adulto (g)	20-40	20-40	20-40	-	-
Aspetto da concha	-Globular; -Umbigo parcialmente revestido; -Bandas ruivas em espiral de baixo relevo	-Abertura da concha com rebordo; -Manto retrátil -Umbigo quase sempre coberto; -Coloração variável	-Fortemente colorido; -Concha castanha com tiras em espiral marrom; -Concha apresenta um <i>degradé</i> radial parecendo pequenas chamas	-Globular -Sem umbigo; -Riscas marrons bem demarcadas	-Globular; -Corpo fino; -Sem umbigo; -Riscas creme na concha
Características do aparelho reprodutor	-Recetáculo seminal sem divertículo, ou provido de um pequeno divertículo de 2 mm	-Divertículo longo e fino, pelo menos o comprimento do canal do recetáculo seminal	-Divertículo de grande canal do recetáculo seminal	-Músculo <i>multifidus</i> perto do ceco; -Pequeno divertículo no canal do recetáculo seminal	-Grande divertículo no canal do recetáculo seminal
Distribuição geográfica	-Europa central e oriental	-Países mediterrânicos; -Europa Ocidental; -Argélia	-Turquia; -Balcãs, ocidente do Cáucaso	-Creta, Grécia; -Anatólia ocidental; -Líbano; -Norte e este de Itália	-Região de Adana e sul da Turquia

Mémento de l'élevage d'escargots, ITAVI. Réédition 1998, Claude AUBERT

Comparativamente com as restantes espécies da Tabela 1.1, denota-se que o *Helix aspersa máxima* apresenta um porte considerável, tanto nas dimensões da concha, como no peso. Ao nível do formato da concha apresenta uma abertura com rebordo, abertura essa onde o corpo mole do espécime é retrátil. O rebordo constitui uma vantagem que o espécime terá adquirido com a sua evolução, pois dota-o de uma maior proteção: o rebordo dificulta os predadores e protege o espécime de condições ambientais adversas (Haddad, 2004).

1.5. Ritmo biológico circanual e circadiano da espécie *Helix aspersa máxima*

A atividade natural dos denominados por caracóis de jardim, tal como a espécie *Helix aspersa máxima*, pode ser classificada em duas grandes fases – atividade e inatividade. A inatividade desta espécie no inverno constitui o estado de hibernação. Caso ocorra o estado de dormência na época de verão, este designa-se por estivação. Não é certo que os dois processos ocorram devido a processos fisiológicos similares, mas são diferenciados apenas pelo período de ocorrência dos mesmos (Haddad, 2004; Gabriel, 2013).

Não se poderá afirmar, por outro lado, que não estejam correlacionados, visto que são ambos estados de inatividade do caracol. O certo é que em cada um destes estados de inatividade existe a formação de uma substância mucosa, segregada pelo próprio caracol, que sela o orifício da concha para se proteger das condições adversas (Haddad, 2004).

Esta membrana apresenta o nome de opérculo no caso do estado de estivação e de epifragma no estado de hibernação. No caso da formação de opérculo, a membrana apresenta uma estrutura mais solidificada devido ao caracol entrar num estado letárgico, onde é provável que perca 30% do peso corporal em água (Haddad, 2004). Estudos elaborados em 2000, indicam que nos períodos de hibernação e estivação, a espécie em causa diminui o consumo de oxigénio em 16% no tecido celular do corpo e em 52% para o tecido celular do manto, em relação a valores de controlo (Bishop e Brand, 2000).

Tendo conhecimento que as estações anuais influenciam o ciclo do caracol, deve, então, existir um controlo na temperatura e humidade do meio em que estes se desenvolvem. Em Portugal, a espécie *Helix aspersa máxima* apresenta pouco ou nenhum período de hibernação, não sendo necessário um reajuste significativo das condições a que a espécie se desenvolve, durante esse período (Iglesias *et al.*, 1996).

Outro dos fatores preponderantes, é a luz diária, estabelecendo um ritmo biológico circanual e circadiano para a espécie. Como os gastrópodes não controlam a sua temperatura natural, estão sujeitos a que o seu tempo de vida seja reduzido face a variações climáticas elevadas. Por exemplo para o *Helix aspersa máxima* a gama de temperaturas a que deve ser sujeito é entre os 7 °C e os 28 °C, com uma temperatura ótima de 20 °C. A temperaturas abaixo dos 6 °C, o gastrópode entra em hibernação, e a temperaturas inferiores a -5 °C acabará por falecer (Haddad, 2004; Pearce e Örstan, 2006; Ansart *et al.*, 2008).

Os caracóis encontram-se mais ativos na época da chuva, principalmente após a mesma, quando existe orvalho ou nevoeiro. O meio ambiente mais seco proporciona-lhes uma maior dormência (Pearce e Örstan, 2006). A humidade relativa recomendável para a sobrevivência dos caracóis situa-se entre os 75% e os 95% (Haddad, 2004). A maior atividade ocorre de noite e em períodos de humidade elevada (Mediavilla, 2008). Nesse tempo ocorrem quatro funções importantes: a locomoção, a alimentação, o aumento no crescimento dos alevins e o início da reprodução (Mediavilla, 2008).

1.6. Influência da Nutrição no Caracol *Helix aspersa máxima*

A espécie *Helix aspersa máxima* é majoritariamente herbívora, sendo a sua alimentação baseada em plantas verdes, leguminosas, vegetais, algumas plantas de jardim, cereais, sementes e frutos (Pearce e Örstan, 2006).

Presume-se que esta espécie tenha a capacidade de se adaptar a diferentes alimentações. Na helicultura, o mais recomendável é adaptar a espécie a uma dieta determinada sem grandes variações que possam levar a uma destabilização do ritmo diário (Gabriel, 2013).

De forma a preservar a saúde, garantindo uma boa formação e reparação da concha e ajudar no crescimento do caracol deve ser acrescentada uma quantidade adicional de cálcio à ração. Esta particularidade torna-se de grande importância, não só para helicultores com fins gastronômicos como para helicultores que pretendam adquirir subprodutos provenientes de caracóis, podendo conjugar qual a dieta de melhor qualidade, formando um gastrópode de melhor composição nutricional (Hayashi, *et al.*, 2005; Gabriel, 2013).

A otimização dos níveis de qualidade da secreção mucosa produzida pelos gastrópodes terrestres é outro dos fatores preponderantes na determinação da alimentação a ser administrada (Espinoza e Schwartzman, 2007; Mediavilla, 2008). Em 2005, Hayashi e coautores concluíram que a concentração de cálcio na ração deve ser superior a 5%, de forma a favorecer o crescimento do caracol e a fortalecer a concha (Hayashi *et al.*, 2005).

Um dos maiores cuidados a ter na alimentação dos gastrópodes terrestres é evitar a presença de determinados oligoelementos, para os quais estes apresentam uma especial afinidade, verificando a retenção de elevadas quantidades de metais, tais como: cobre, zinco, cádmio, chumbo, cério, estrôncio, bário e telúrio. Estes metais poderão depositar-se tanto nos tecidos moles como na concha, podendo apresentar valores acima dos níveis ambientais e causar problemas nos caracóis (Madoz-Escande e Simon, 2006; Gabriel, 2013).

Outra das precauções a ter na criação de caracóis é durante a limpeza dos materiais que constituam o meio. Os detergentes (produtos tensioativos) são produtos nocivos ao organismo dos caracóis, podendo levar à morte dos espécimes num curto espaço de tempo.

Em 1954, Jaskowski submergiu espécimes de *Stanicola reflexa* em dez soluções contendo 0,5% de diferentes detergentes, tendo verificado que, na maioria dos casos, os caracóis faleciam passado meia hora após a submersão (Visser, 1965). Já Lagrange e coautores, identificaram, em 1950, dois tipos de detergentes letais aos gastrópodes (Cetavlon e Zephyron) quando utilizados em concentrações superiores a 10 ppm (Visser, 1965).

1.7. Metodologias para Obtenção da Baba de Caracol

A secreção mucosa é um gel viscoso composto por água e diversos polímeros que proporcionam uma proteção contra agentes infecciosos, tanto em animais de pequeno porte, como o caso do caracol, como em animais de maiores dimensões (Verdugo *et al.*, 1987).

Essa secreção mucosa é usada pelos gastrópodes terrestres como uma fina película cobrindo todo o pé de modo a promover diversas funcionalidades, tais como: locomoção, lubrificação, aderência, repulsão de presumíveis predadores e cópula com outro espécime, durante a reprodução (Campion, 1961; Koene e Chase, 1998; Smith e Morin, 2002).

Estudos realizados à baba de caracol revelam que apresenta um conteúdo em água acima de 95% (w/w) (Denny, 1984; Skingsley *et al.*, 2000; Smith e Morin, 2002; Pawlicki *et al.*, 2004), combinada com uma pequena percentagem de glicoproteínas de elevado peso molecular que, relativamente à espécie *Helix aspersa máxima*, podem alcançar os 82, 97 e 175 kDa, consoante o modo de obtenção da mesma (Pawlicki *et al.*, 2004).

Diversos molúsculos, tanto espécies marítimas como terrestres, usam esta secreção para aderir a superfícies, aquando da sua inatividade. É peculiar que um gel com tamanha diluição apresente características tão diversificadas, servindo simultaneamente como lubrificante e, por outro lado, favorecendo a aderência a superfícies (Pawlicki *et al.*, 2004).

Mary Campion em 1961, descreveu todo o processo de produção da secreção na espécie *Helix aspersa máxima* e revelou que a forma como é efetuada a estimulação do caracol toma uma preponderância clara nas características da secreção produzida (Campion, 1961).

Esta diferenciação consoante o estímulo aplicado pode variar desde uma secreção mais viscosa de cor esverdeada, produzida em condições normais com uma estimulação ligeira, até uma secreção em forma de espuma e clara, resultado de uma estimulação contínua ou violenta, apresentando propriedades distintas (Campion, 1961; Verdugo *et al.*, 1987).

Campion (1961) descreveu, ainda, as oito glândulas secretoras: quatro secretoras de vários tipos de baba, uma secretora de proteínas, uma secretora de grânulos de cálcio carbonatado, uma secretora de pigmentos contendo flavonas e uma secretora de componentes lipídicos, que são estimuladas consoante as solicitações fisiológicas. Estas glândulas são unicelulares e segregam os produtos, por poros que atravessam as células epidérmicas (Campion, 1961).

O processo de libertação dos diversos produtos segregados por estas glândulas é discutível, pois algumas células glandulares encontram-se interligadas com fibras musculares e, noutros casos, não existe tal ligação e a libertação ocorre com a pressão do hemocele, uma cavidade presente nos gastrópodes terrestres caracterizada pela presença de hemolinfa, um fluido que auxíla o sistema circulatório (Campion, 1961).

Foi possível concluir também que a inervação das células glandulares é preponderante na obtenção da baba, pois o estímulo das glândulas é controlado pelo sistema nervoso, podendo, assim, ser explicado o aumento de cálcio segregado quando os gastrópodes terrestres se encontram sobre *stress*. Contudo, verificou-se no mesmo estudo, que a baba produzida apresenta uma baixa ação antisséptica (Campion, 1961).

As propriedades antioxidantes da baba só ocorrem após a hibernação do caracol, pois o espécime precisa restabelecer o seu sistema imunológico, da baixa concentração de oxigénio a que esteve sujeito (Ramos-Vasconcelos e Hermes-Lima, 2003).

A secreção da baba de caracol depende, assim, do estímulo aplicado, das condições ambientais a que o espécime se encontra sujeito, dos ritmos circanual e circadianos e dos hábitos de higiene e alimentar (Espinoza e Schwartzman, 2007). Por isso, a composição da baba de caracol é influenciada por diversos fatores, podendo determinar o nível de qualidade e as propriedades pretendidas em alguns produtos elaborados através da mesma, tal como produtos farmacêuticos ou de uso cosmético (Mediavilla, 2008).

Apesar de existirem algumas variações nas formas de obtenção da baba de caracol descritas na literatura, estas são ainda pouco elaboradas ou até tradicionais. Talvez, seja essa a razão para que, atualmente, a secreção de caracol seja comercializada como matéria-prima com elevado valor económico (Espinoza e Schwartzman, 2007). Espinoza e Schwartzman, referiram em 2007, que os caracóis escolhidos para serem sujeitos a um processo de extração de baba devem seguir determinadas especificações, das quais, estarem no período anterior à hibernação, ao contrário do que foi referido para o aparecimento das propriedades antioxidantes da baba, por Ramos-Vasconcelos e Hermes-Lima, uma idade superior a 4 meses após a eclosão e um peso igual, ou superior, a 7 g (Espinoza e Schwartzman, 2007).

Tal como já referido anteriormente, em Portugal, a espécie *Hélix aspersa máxima* apresenta um período de hibernação curto, ou por vezes nulo, permitindo assim um período para extração de baba mais longo (Iglesias *et al.*, 1996).

Como já mencionado neste documento, Quevauviller, em 1953, descreveu um dos métodos mais antigos para a obtenção de baba através de um estímulo químico por submersão de gastrópodes numa solução aquosa com 1,0% (w/w) de cloreto e sódio (Bonnemain, 2005). Apesar de este ser um processo de recolha de baba utilizado e com prova dada, a sua ação prolongada poderá interferir no desenvolvimento adequado da espécie em causa, para além de serem necessários métodos posteriores de separação dos compostos químicos para purificação da baba de caracol, aumentando os custos de produção (Colognesi *et al.*, 2013).

A forma mais usual de obter baba é por estímulo físico, pois não influencia a qualidade da mesma (Skingsley *et al.*, 2000). O estímulo físico, provocando *stress* ao caracol, pode ser promovido usando seis metodologias diferentes, que são descritas nos próximos parágrafos.

A metodologia mais frequente pressupõe a utilização de uma vareta de vidro para friccionar o pé do caracol (Levene, 1925; Gabriel *et al.*, 2011). Apesar de ser um dos métodos menos invasivo e aconselhável para testes laboratoriais, é um método moroso e que apresentará custos de operação elevados a nível industrial. Outras duas formas de obtenção da baba utilizadas em laboratório, é por extração manual (Mediavilla, 2008) e com uso de agulhas (Coupland, 1996), soluções não muito práticas para implementar industrialmente.

Skingsley e coautores, referiram no ano 2000, que anteriormente à extração da baba de caracol, deve existir um período de adaptação ao toque humano para minimizar os fatores de *stress* inerentes, caso exista contacto humano durante a extração (Skingsley *et al.*, 2000). Esse processo de habituação ocorre de forma rápida desde que o estímulo não seja invasivo. Sem esta adaptação, e especialmente em espécies terrestres, como é o caso da espécie *Helix aspersa máxima*, existe uma reação defensiva, produzindo uma secreção menos viscosa, em forma de espuma, tal como foi descrito anteriormente. O autor optou pela extração por fricção com uma vareta de vidro, procedimento já mencionado (Skingsley *et al.*, 2000).

Um método peculiar de otimização da produção de baba por gastrópodes foi aplicado por Ewoldt e coautores (Ewoldt *et al.*, 2007). Sabendo da atração dos caracóis por cerveja, Randy Ewoldt incentivou a locomoção dos espécimes em estudo colocando cerveja num extremo oposto da localização do espécime e, posteriormente, recolheu a secreção de locomoção com o auxílio de uma lâmina, para estudos de aderência (Ewoldt *et al.*, 2007; Strachan, 2007). O uso de cerveja é uma técnica ancestral de proteção de terrenos agrícolas, sendo a captura dos caracóis feita usando um sistema que aprisionava os gastrópodes terrestres (Dyer e Pogue, 1988; Eichmuller e Dubach, 1982).

Na metodologia por electro-estímulos o caracol é colocado sobre uma superfície que emite impulsos elétricos controlados (de 2 volts a 20 volts) ao nível do pé, de forma a estimular o sistema nervoso do caracol para produção de baba (Campion, 1961; Iguchi *et al.*, 1982). Os testes realizados por Mary Campion, demonstraram que com impulsos elétricos de 2 e 5 volts, o muco produzido era usualmente de cor esverdeada e viscoso, similar à secreção produzida pela espécie *Helix aspersa máxima* em condições normais (Campion, 1961).

Este teste, apesar de promissor na aplicação em larga escala, não deverá ser usado intensamente visto que os estímulos nervosos são prejudiciais ao desenvolvimento normal da espécie, podendo a baba obtida não possuir a mesma qualidade (Skingsley *et al.*, 2000).

Já os inventores Rafael Abad, em 1996, e, posteriormente, Wang, em 2010, publicaram duas patentes onde a baba era obtida por um processo de centrifugação aos gastrópodes (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). Segundo os autores, a aceleração durante a centrifugação estimula as glândulas do caracol a produzir baba e não altera a composição química da secreção. O processo de extração e purificação utilizado subdivide-se em seis fases:

- Estímulo físico do gastrópode vivo de forma a produzir baba;
- Separação da secreção do gastrópode;
- Centrifugação da secreção;
- Separação do sobrenadante;
- Filtração do sobrenadante;
- Recuperação do filtrado.

Para eliminar toxinas produzidas pelo caracol, de forma a não contaminar a secreção obtida, este poderá ser submetido a uma pré centrifugação, ou a uma privação de alimento por um período de um a cinco dias, antes da estimulação física (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Contudo, existe a possibilidade de usar um agente químico para inativação das toxinas que se encontrarem posteriormente na baba, processo esse não revelado (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). No caso de ser necessário o armazenamento da secreção antes da sua utilização, esta deve sofrer um processo de congelação entre -10°C a -30°C (preferencialmente a uma temperatura de -20°C) (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). Caso o tempo de armazenamento seja superior a um ano, a secreção deverá ser liofilizada (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

A velocidade da centrifugação deverá ser avaliada consoante a fragilidade da concha do espécime. A concha protege as vísceras do animal e caso a concha quebre no processo, o coração poderá ficar sujeito a uma elevada força centrípeta, podendo ser letal para o espécime (Abad, 1996; Wang, *et al.*, 2010). As rotações recomendadas são de 2000 rpm a 4000 rpm, podendo variar caso varie o raio da centrífuga (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Caso o braço da centrífuga seja comprido a aceleração será maior, visto que a circunferência descrita apresenta maior raio. Assim, a medição deverá ser dada em força G (o número de vezes da aceleração da gravidade). Preferencialmente, a força G deverá encontrar-se no intervalo entre 1 G e 6 G, durante 2 a 10 minutos, respetivamente. Forças superiores a 7 G não deverão ser usadas pois poderão ser fatais para o gastrópode. Cada ensaio deve ser realizado a temperaturas entre 10°C e 35°C, preferencialmente a 20°C.

De forma a otimizar o processo de extração da baba de caracol, deve ser desacelerada a centrífuga de forma a promover pulsações (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). Tipicamente, a centrífuga é acelerada até 2 G e durante os 10 minutos de centrifugação são efetuadas três a quatro pulsações. Posteriormente, a baba obtida é separada do caracol e centrifugada entre 200 rpm a 5000 rpm, por 2 a 10 minutos (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Após o período de centrifugação da secreção de caracol obtida, o sobrenadante é separado e filtrado com um microfiltro de 0,1 µm a 1 µm de porosidade. A filtração poderá ser sob pressão de forma a acelerar o processo (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Abad, em 1996, estudou uma amostra de 2 kg de caracóis (*Helix hortensis*), que usou para extrair secreções por centrifugação durante dois dias. Os gastrópodes foram centrifugados a 2 G, durante 10 minutos, a temperaturas entre 10°C e 25°C (Abad, 1996). No processo, a centrífuga foi desacelerada quatro vezes até 0,5 G e mantida durante 20 segundos nessa força. A secreção foi posteriormente centrifugada a 2000 rpm, separando o sobrenadante por decantação e após filtração foram recuperados 800 ml de filtrado (Abad, 1996).

Outros estímulos menos recomendados, envolvem: vibrações sonoras, baixas pressões, condições de hipoxia e variações de temperatura. Contudo, poderão ser conjugadas com outros métodos para otimização da extração de baba (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Os estudos revelam que estímulos com agentes químicos, tais como soluções hipertônicas, não são adequados pois existe a probabilidade de contaminação com as fezes, necessitando de um agente químico para inativação das toxinas que se encontrarem posteriormente na baba, encarecendo o processo de extração (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Apesar de serem mencionadas as metodologias aplicadas na obtenção do muco dos caracóis, apenas as patentes supracitadas revelam o tempo a que o espécime deve estar sujeito para obtenção da secreção, sendo de 10 minutos (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). Contudo, nenhuma das publicações consultadas revelou qual o intervalo de tempo que o caracol deve ter para repouso entre processo de extração da secreção consecutivos, nem o tempo ótimo a que o caracol deve estar sujeito, durante o processo de extração.

1.8. Quantidade e Constituintes da Bada de Caracol

Após a obtenção da secreção do caracol, muitos são os artigos que revelam os constituintes da mesma (Lenene, 1925; Skingsley *et al.*, 2000; Espinoza e Schwartzman, 2007; Mubarak *et al.*, 2013; Gonzalez e Flores, 2013). Tal como já foi referido, a baba de caracol contém uma percentagem de água superior a 95%, em peso (Denny, 1984; Skingsley *et al.*, 2000).

Os restantes 5% da baba que é segregada pela espécie *Helix aspersa máxima* são compostos por: ácido glicólico que possui a função de eliminar células mortas dos tecidos da pele (propriedades queratolíticas) (Espinoza e Schwartzman, 2007; Mediavilla, 2008; Mubarak *et al.*, 2013), proteínas e péptidos, ou mais propriamente glicoproteínas, que apresentam efeitos regeneradores e reparadores dos tecidos (que também são designadas por mucopolissacarídeos (tais como o colagénio, constituinte encontrado na pele (Gonzalez e Flores, 2013) que poderão encontrar-se ligados a lectinas (Lenene, 1925; Skingsley *et al.*, 2000; Espinoza e Schwartzman, 2007), a elastina que confere elasticidade à pele juntamente com o colagénio (Espinoza e Schwartzman, 2007; Gonzalez e Flores, 2013).

Uma das proteínas que poderá, ainda, ser encontrada na baba é a alantoína, um composto ativo seguro e eficaz para a pele com propriedades queratolíticas, hidratantes, protetoras contra agentes irritantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes (Martin, 2010; Mubarak *et al.*, 2013). A alantoína é o constituinte de referência para determinação da qualidade da baba de caracol, aquando da sua comercialização (Espinoza e Schwartzman, 2007).

Outros compostos que constituem a baba de caracol, em menor percentagem, são ainda as vitaminas A1, A2, B, C e D que funcionam como enzimas no processo de crescimento celular (Espinoza e Schwartzman, 2007). Apesar de Campion, em 1961, ter revelado que a baba não apresentava qualidades antissépticas nem antimicrobianas, existem estudos posteriores que revelam que o muco da espécie *Helix aspersa máxima* apresenta uma baixa propriedade antimicrobiana (Espinoza e Schwartzman, 2007). No entanto, não deve ser descartada a adição de um composto que auxilie o combate bacteriano nos produtos farmacêuticos ou cosméticos onde a baba seja um constituinte, ou uma esterilização por raios gama da baba extraída (Castro *et al.*, 2006; Espinoza e Schwartzman, 2007).

Os principais riscos de contaminação da baba resultam de agentes patogénicos provenientes dos caracóis. Estes agentes patogénicos são constituídos por bactérias, fungos patogénicos, nematodes, trematodes e actínídeos (Espinoza e Schwartzman, 2007; Gabriel, 2013). Os principais agentes patogénicos na baba são os *Mesófilos Aeróbios*, agentes oportunistas e agentes principais, que podem provir da flora comensal dos animais, tais como a *Pseudomonas aeruginosa*, o *Staphylococcus aureus* e a *Escherichia coli*. Outra bactéria Gram-negativa em forma de bacilo que afeta a baba é a *Salmonella sp.* As bactérias são o foco principal de análises à baba (Espinoza e Schwartzman, 2007; Gabriel, 2013).

A baba de caracol é, ainda, passível de contaminação por fungos e leveduras, dos quais são maioritariamente identificados os agentes oportunistas *Aspergillus*, *Geotrichum* e *Penicillium* (Espinoza e Schwartzman, 2007; Gabriel, 2013).

A quantidade de baba produzida por um indivíduo da espécie *Helix aspersa máxima* é cerca de 0,17% da massa do caracol (Gabriel *et al.*, 2011). Habitualmente, a concentração de baba de caracol em produtos cosméticos varia entre 0,1% até, cerca de 30% a 40% do peso do produto preparado, sendo recomendado um conteúdo de 0,5% a 10% em produto. Contudo, a percentagem de baba de caracol a utilizar deve estar sempre de acordo com a finalidade do produto cosmético em causa (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

1.9. Análises Quantitativas à Baba de Caracol

Os métodos de colorimetria são os mais utilizados na determinação quantitativa de proteínas e açúcares totais presentes numa amostra de baba (Lorenzi e Martins, 2008). Já as técnicas de espectrofotometria são as mais comuns para a identificação de compostos orgânicos e inorgânicos (Skingsley *et al.*, 2000). Estas metodologias são de simples e rápida implementação, fornecendo resultados reprodutíveis e fiáveis (Albalasmeh *et al.*, 2013).

O método fenol-sulfúrico apresentado por Dubois e coautores, em 1956, permite determinar os açúcares simples, polissacarídeos e seus derivados, incluindo os metil-ésteres com grupos redutores simples após a desidratação dos mesmos, através da adição de ácido sulfúrico e fenol ao conteúdo da amostra que se pretende analisar (Albalasmeh *et al.*, 2013). A mudança de cor ocorre na região do visível e é proporcional à concentração de açúcares presentes na amostra. Esta reação é sensível e de cor estável (Albalasmeh *et al.*, 2013).

As determinações são realizadas por espectrofotometria a um comprimento de onda no valor de 490 nm, de forma obter a quantidade de açúcares presentes na amostra (Silva *et al.*, 2003). Para que os resultados da determinação de proteínas por espectrofotometria sejam fiáveis e reprodutíveis, é fundamental a utilização de um método sensível, expedito e que sofra poucas interferências de leitura, por espectrofotometria (Bradford, 1976).

O método sugerido por Lowry, em 1951, é sujeito a interferências por compostos, como iões de potássio e magnésio, pelo EDTA, tris-hidroximetilamino metano, reagentes com grupos tiol e, ainda, por hidratos de carbono, tornando-o pouco sensível (Bradford, 1976).

O método de biureto, definido por Riegler, é, também, pouco sensível, com interferências de compostos como tris-hidroximetilamino metano, amônia e glicerol (Bradford, 1976).

A determinação de proteínas pelo método de adição de Amidoschwarz 10-B à amostra é um método sensível, no entanto, este procedimento necessita de uma microfiltração para remoção do precipitado resultante da precipitação de proteínas por ácido tricloroacético, constituindo um problema adicional ao tempo de realização da análise (Bradford, 1976).

O pigmento Coomassie Brilliant Blue G-250 apresenta um desvio no comprimento de onda para o qual se observa o máximo de absorção de 465 nm (forma vermelha do pigmento) para 595 nm (forma azul) quando se liga a proteínas, pelo que estas podem ser quantificadas pelo aumento da absorvância a 595 nm (Bradford, 1976). O processo de conjugação do complexo proteína-pigmento é significativamente rápido (cerca de 2 minutos) e tem um elevado coeficiente de extinção (cerca de 1 hora), tornando este método bastante sensível, expedito, reprodutível, pouco sujeito a interferências e sem grande dispêndio de tempo na realização do procedimento experimental (Bradford, 1976).

1.10. Produtos de Cosmética com Baba de Caracol

A seleção de qualquer composto para preparação de produtos com fins terapêuticos ou cosméticos segue uma escolha criteriosa, visto que deve ser farmacologicamente aceitável, seguir a legislação aplicável e ser ajustado ao tipo de utilização a que se destinam, seja em creme, gel, líquido, óleo ou loção. Deve ser, ainda, tido em conta o propósito de cada produto, seja apenas para prevenção ou para tratamento da pele (Abad, 1996).

Preferencialmente, os compostos devem ser quimicamente estáveis, apresentar uma boa afinidade com as características da pele, conferir ao produto uma consistência desejada e torná-lo de fácil aplicação. A adição de baba de caracol torna a escolha mais restritiva dos compostos a usar, visto que não poderão ser quimicamente reativos com a baba, alterando as qualidades da mesma como deteriorando o cosmético preparado (Abad, 1996).

Os constituintes dos excipientes usados tradicionalmente nos produtos de cosmética que contêm baba de caracol são em seguida apresentados e, simultaneamente, de forma muito concisa, é referida a sua contribuição para as características e propriedades dos produtos cosméticos e farmacêuticos em geral. Estes constituintes foram adotados pela preparação dos produtos de cosmética elaborada por Adad e Wang (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

O álcool cetílico é amplamente utilizado em produtos cosméticos e farmacêuticos tais como supositórios, sistemas de libertação controlada, emulsões, loções, cremes e pomadas. Em loções, cremes e pomadas o álcool cetílico é usado pela sua capacidade emoliente, de absorção de água e das suas propriedades emulsionantes. Melhora a estabilidade, a textura e aumenta a consistência dos produtos de cosmética. As propriedades emolientes resultam da absorção e retenção do álcool cetílico na epiderme, onde ocorre uma lubrificação e suavização da pele durante a aplicação do composto (Rowe *et al.*, 2009).

O álcool cetílico apresenta, assim, uma textura característica, que é normalmente denominada por "aveludado". É também usado em produtos cosméticos ou farmacêuticos pelas suas propriedades de absorção de água em emulsões de água em óleo, atuando como emulsionante. Permite, assim, a redução da quantidade de outros agentes emulsionantes usados na formulação dos produtos de cosmética ou farmacêutica (Rowe *et al.*, 2009).

O polietilenoglicol, também designado por PEG, é amplamente utilizado em formulações farmacêuticas, incluindo as tópicas, oftálmicas, bucais e retais. É uma substância hidrofílica, estável e não irritante para a pele. Na verdade, o polietilenoglicol não penetra rapidamente na pele, pois é solúvel em água e portanto facilmente removível por lavagem. Torna-se, assim, útil como suporte ou matriz de produtos para unção (Rowe *et al.*, 2009).

Soluções aquosas de PEG podem ser usadas como agentes de suspensão, ajustando a viscosidade e a consistência dos produtos preparados. Quando usado em conjunto com outros emulsionantes, os polietilenoglicóis podem atuar como estabilizadores da emulsão. O PEG 300 e o PEG 400 têm sido usados como veículo para dosagem de fórmulas parentéricas. Os polietilenoglicóis com elevado peso molecular aumentam a eficácia de aglutinantes e conferem plasticidade em grânulos. Podem ainda ser utilizados para melhorar a solubilidade ou características de dissolução de compostos pouco solúveis. No estado sólido, os polietilenoglicóis são de cor branca ou transparente, apresentando uma consistência em pasta ou granulada. Apresentam um suave odor a doce (Rowe *et al.*, 2009).

O monoestearato de glicerol pode ser usado em emulsionantes não iónicos, estabilizadores, emolientes, plastificantes e em uma variedade de alimentos, produtos farmacêuticos e aplicações cosméticas. Atua como um estabilizador eficaz, sendo um solvente de compostos polares e não polares que possam formar emulsões de óleo em água ou de água em óleo. Estas propriedades tornam o monoestearato de glicerol um agente dispersante de pigmentos em óleos, ou sólidos em gorduras, ou, ainda, como solvente de fosfolípidos. Pode também ser usado para formar matrizes de libertação de outros compostos em forma de dosagem sólida. Ao utilizar o monoestearato de glicerol numa formulação, a possibilidade de formação de um polimorfo deve ser tida em conta. Esse polimorfo apresenta, no entanto, características de substância dispersiva e espumosa, sendo útil como agente emulsionante ou conservante em produtos farmacêuticos (Rowe *et al.*, 2009).

O carbonato de cálcio é utilizado como um excipiente farmacêutico, em formas de dosagem sólida, atuando como diluente. É também utilizado como um aditivo alimentar ou como um antiácido e suplemento de cálcio em produtos de cosmética (Rowe *et al.*, 2009).

O óxido de zinco, apesar de ser permitido como protetor solar nos Estados Unidos da América, não consta das diretivas Europeias 2003/83/CE e 2005/9/CE que descrevem quais os protetores solares indicados para produtos de cosmética Europeia. É, no entanto, permitido pelas mesmas diretivas Europeias como um corante cosmético e como ingrediente geral de produtos com fins terapêuticos (Barel *et al.*, 2009; Rowe *et al.*, 2009).

A aplicação do óxido de zinco em produtos cosméticos pode, ainda, ser associado à importância do zinco como co-elemento crucial em mais de 200 reações enzimáticas que ocorrem na pele. O óxido de zinco atua como agente benéfico no efeito mediador do *stress* oxidativo e como protetor contra irritações da pele. Existem também aplicações do óxido de zinco em aerossóis para proteção da pele de bebês contra eritemas (Barel *et al.*, 2009).

A parafina líquida é usada em formulações farmacêuticas tópicas, como um componente para cremes ou pomadas. É inodora, insípida, ligeiramente gordurosa ao tato, translúcida ou com cor esbranquiçada, dependendo da pureza. Apresenta propriedades emolientes e aumenta o ponto de fusão de uma formulação, podendo conferir rigidez, quando usada em unção. Pode ser usada como revestimento de cápsulas e comprimidos. É, ainda, utilizada em emulsões de água em óleo como solvente e como lubrificante (Rowe *et al.*, 2009).

A glicerina é utilizada numa grande variedade de formulações farmacêuticas incluindo a via oral, ótica, oftálmica, tópica ou em géis. Em formulações farmacêuticas, tópicas e cosméticas, a glicerina é utilizada pelas suas propriedades umectantes e emolientes. É, ainda, utilizada como co-solvente ou como solvente em cremes ou emulsões. A glicerina pode ainda ser utilizada como agente edulcorante, conservante antimicrobiano e como agente no aumento da viscosidade de produtos de cosmética (Rowe *et al.*, 2009).

A lanolina é amplamente utilizada em formulações terapêuticas e farmacêuticas tópicas e em produtos cosméticos. A lanolina pode ser usada como um veículo hidrofóbico na preparação de cremes e pomadas ou em emulsões de água em óleo. Quando misturada com óleos vegetais adequados ou com parafina mole ou líquida, produz cremes emolientes que penetram na pele humana e facilitam a absorção de agentes ativos (Rowe *et al.*, 2009).

A lanolina mistura-se com cerca de duas vezes o seu próprio peso de água, aumentando, assim, o seu volume para produzir emulsões estáveis que permitem a conservação do produto de cosmética durante o seu armazenamento. Pode causar leves irritações cutâneas quando adicionada com álcool cetílico que contenha impurezas (Rowe *et al.*, 2009).

O alúmen de potássio é um adstringente forte capaz de precipitar as proteínas. É comumente utilizado em preparações dermatológicas e pode ser usado como um hemostático tópico, quer no estado sólido ou em solução de produtos (Rowe *et al.*, 2009).

Na composição ou formulação de alguns cosméticos, existe a possibilidade de adição de uma essência aromática estável. Essa essência aromática proporciona uma fragância ao produto cosmético de forma a torna-lo mais atrativo comercialmente. Uma dessas essências aromáticas utilizadas é a água de rosas que para além de proporcionar um aroma agradável ao produto de cosmética é rica em precursores de vitamina A e em ácidos gordos essenciais para nutrir e hidratar a pele humana (Wang *et al.*, 2010).

1.11. Enquadramento do Presente Trabalho

O estudo desenvolvido, e que será apresentado, surgiu do pedido da empresa *MiranHélix-Comercialização de Caracóis, Lda*, para definir e implementar um processo de extração da baba de caracol de uma das espécies comercializadas pela empresa, *Helix aspersa máxima*.

A metodologia a desenvolver não devia interferir com o desenvolvimento normal da espécie de forma a garantir a sua posterior comercialização para uso gastronómico, na concha ou na forma do miolo. A baba de caracol extraída teria como finalidade a sua adição a produtos para fins cosméticos, pelo que o processo de extração deveria ser seguido de uma etapa de purificação físico/química.

Assim, os principais objetivos que estiveram presentes no desenvolvimento deste estudo foram: a otimização da alimentação à base de ração a fornecer à espécie *Helix aspersa máxima*; a implementação de um processo de extração de baba de caracol para a mesma espécie com otimização do tempo de extração, apresentando um bom rendimento e um baixo custo económico; a implementação de um processo de purificação da baba de caracol extraída; a determinação de algumas propriedades físico/químicas da baba, tais como, massa volúmica, viscosidade, pH, concentração de proteínas e concentração de açúcares totais; e a preparação de três produtos para fins cosméticos, contendo baba de caracol.

Foi, ainda, considerada uma abordagem a uma amostra populacional, por questionários de satisfação, para determinar os níveis de satisfação de potenciais consumidores relativamente aos três produtos de cosmética, para a sua aceitação comercial.

Os métodos usados para o processo de extração de baba dos caracóis foram: por estímulo ao nível do pé do gastrópode com uma vareta de vidro, por centrifugação dos caracóis, por sucção ao nível do pé do gastrópode e por sucção ao nível do pé do gastrópode, com a sua hidratação através de adição de água destilada durante o processo de extração realizado.

Os resultados obtidos por cada processo serão comparados com informação bibliográfica de processos de extração por centrifugação dos gastrópodes terrestres (Abad, 1996; Wang, *et al.*, 2010) e por estímulo do gastrópode, com uma vareta de vidro (Gabriel *et al.*, 2011).

Os resultados obtidos das análises físico/químicas da baba de caracol que foi recolhida no laboratório foram realizados de acordo com análises espectrofotométricas disponíveis na bibliografia (Fountain e Campbell, 1984; Lorenzi e Martins, 2008). Os valores de pH da baba de caracol foram comparados com a literatura consultada (Castro *et al.*, 2006).

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Nesta secção apresentam-se todos os materiais, reagentes e equipamentos utilizados durante o trabalho experimental, bem como o procedimento seguido para a realização do trabalho.

2.1. Considerações Iniciais

Para a elaboração do estudo, todo o material utilizado foi previamente lavado, limpo com água destilada e posteriormente seco numa estufa (*Nahita Drying Oven Model 631 plus*), para eliminação de possíveis contaminações. Os materiais referidos encontram-se descritos ao longo das secções seguintes, aquando da referência da sua utilização e no anexo A. Como a temperatura e a humidade ambiente influenciam não só a atividade do caracol, como a produção de baba, esses valores foram registados ao longo do estudo laboratorial através de um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda* e encontram-se descritos no anexo C.

Todas as amostras de baba extraída foram submetidas a um processo de congelação a -11°C num congelador térmico (*AEG Electrolux*), para conservação das amostras. Tanto na determinação de algumas propriedades físico/químicas da baba de caracol, como para a elaboração dos produtos de cosmética, foi necessário utilizar reagentes certificados laboratorialmente, de forma a obter os resultados mais exatos possíveis. Os reagentes utilizados encontram-se apresentados na Tabela A.3, do anexo A. O trabalho experimental desenvolvido foi dividido em quatro etapas distintas: a otimização do fornecimento de alimentação à base de ração aos caracóis; a otimização da extração e purificação da baba; a realização de análises físico/químicas à baba extraída e, ainda, a preparação de produtos de cosmética, contendo baba.

De modo a dar início ao estudo laboratorial, no dia 5 de novembro de 2014 foram facultados, pela empresa *MiranHélix- Criação e Comercialização de Caracóis, Lda.*, seis espécimes adultos de gastrópodes terrestres da espécie *Helix aspersa máxima* e 165 espécimes de alevins da mesma espécie, denominação referente a espécimes recém-nascidos (Gabriel, 2013).

Todos os alevins foram colocados numa caixa feita em polietileno de baixa densidade (LDPE) (32,3 cm de comprimento, 20,2 cm de largura e 18,0 cm de altura), com tampa perfurada, que foi identificado por *Kit 1*. Os seis caracóis adultos foram confinados numa outra caixa, com características idênticas à anterior, que obteve a designação de *Kit 2*.

Cada caixa continha cinco telas em material plástico (LDPE) de forma a aumentar a área disponível para a locomoção dos espécimes. Para apoiar as telas, cada caixa possuía dois tubos em metal suspensos por parafusos. A idealização das caixas, apresentadas na Figura 2.1 e na Figura 2.2, foi da responsabilidade da empresa *MiranHélix, Lda.*, que teve a amabilidade de as conceber. Todos os caracóis foram submetidos a um ciclo de luz natural ao permanecerem nas caixas de confinamento, no laboratório. Ao longo do estudo laboratorial, todas as caixas de confinamento dos gastrópodes terrestres foram lavadas cinco vezes por semana, sendo efetuada posteriormente a administração da alimentação, à base de ração, através de suportes em LDPE.

Simultaneamente, recorrendo a um aspersor manual, era feita a aspersão necessária de água, proveniente da rede pública. A temperatura e humidade ambiente no interior das caixas eram registadas usando um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda*.

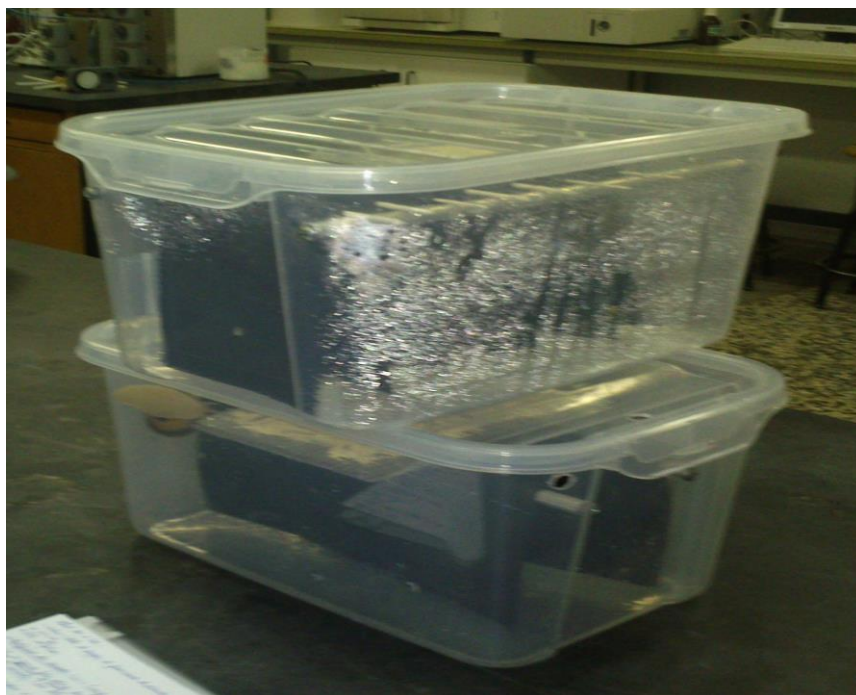


Figura 2.1 – Aparência das caixas de confinamento (*Kit's*).

No momento da lavagem de cada caixa de confinamento, os gastrópodes terrestres adultos eram colocados em caixas temporárias em LDPE com tampa perfurada (com 24,9 cm de comprimento, 16,6 cm de largura e 15,3 cm de altura). Os grupos de alevins eram colocados em caixas temporárias feitas em politeraftalato de etileno (feitas em PET, com as dimensões: 20,4 cm de comprimento, 14,6 cm de largura e 5,4 cm de altura).



Figura 2.2 – Disposição no interior de cada caixa de confinamento (*Kit*) contendo as telas, os suportes metálicos das telas e o suporte de alimentação à base de ração.

Assim, a cada caixa de confinamento correspondia uma caixa temporária, facilitando a manutenção de cada grupo de gastrópodes terrestres, durante o trabalho laboratorial realizado.

Os gastrópodes terrestres adultos nasceram na época primavera-verão de 2013. Após o seu crescimento até à fase adulta, foram sujeitos a um processo de congelação, desde abril de 2014 até 25 de outubro de 2014, técnica de conservação aplicada na empresa *MiranHélix, Lda.*. Já os alevins tinham nascido nove dias antes da sua entrega, sendo descendentes de espécimes adultos que se encontravam em atividade na empresa.

Nos meses de novembro e março, foi colocado um recipiente com turfa biológica para reprodução dos espécimes. Este procedimento teve como base metodologias de reprodução da espécie praticadas na helicultura portuguesa (Iglesias *et al.*, 1996).

Para identificação dos espécimes adultos foi inicialmente idealizada uma numeração no topo da concha recorrendo a uma caneta de tinta permanente (*STAEDTLER permanente Lumocolor*).

Com o decorrer do estudo verificou-se que esta forma de identificação não era a mais adequada, pois como a caixa de confinamento se encontrava com uma humidade elevada e como os gastrópodes terrestres circulavam uns sobre os outros, a tinta era facilmente removida, podendo até causar problemas graves aos espécimes, ou até mesmo levar à morte, caso fosse ingerida.

Como a identificação numérica era essencial para o reconhecimento individual de cada espécime, foi alterada a forma de identificação. Passou-se a usar um papel sobreposto por uma tira de fita-cola *Tesa film*. Esta nova forma de identificação revelou-se também ineficaz, pois o alto teor de humidade no interior da caixa de confinamento impedia a aderência da fita-cola à concha. Assim, a solução passou pela utilização de *super cola* (*TANWEER SUPER GLUE*), de forma a fixar a fita-cola com a numeração em papel, tal como apresentado na Figura 2.3.



Figura 2.3 – Identificação de cada espécime com o papel numerado.

No entanto, foi necessário ter um cuidado redobrado com a aplicação da *super cola*, pois esta pode ser prejudicial, especialmente para animais de pequeno porte (Toriumi *et al.*, 1990). Foi apenas colocada uma gota em cada extremidade da fita-cola, de forma a não danificar a concha.

Como os espécimes perdiam peso durante a recolha de baba, foi estipulado um período de repouso de cerca de uma semana entre cada processo de extração, para que cada espécime pudesse voltar à sua massa corporal inicial, segundo observações diárias às massas corporais.

2.2. Otimização do Fornecimento da Alimentação à Base de Ração

Durante onze semanas foi efetuado um estudo com vista a otimizar a alimentação fornecida a caracóis adultos. Pretendia-se determinar a quantidade de alimentação a administrar para os caracóis manterem o seu peso ótimo no início de cada extração. Para isso, foram monitorizadas individualmente as características morfológicas dos seis espécimes adultos, tendo sido determinada a sua massa (usando uma balança de precisão, *Mettler Toledo AG204*), o tamanho médio da concha e o tamanho médio do miolo, aquando da locomoção de cada espécime, com o auxílio de um paquímetro digital. No entanto, na oitava semana deste estudo, dois espécimes adultos faleceram por afogamento, o que limitou o número de observações para a otimização.

As rações utilizadas durante este estudo eram da marca *EuroCaracol*, proveniente da empresa *EuroRações Lda.*, e da marca *Vericol-H50-Farinha, Alimento Completo para Caracóis* preparada pela empresa *Rações Veríssimo, S.A.*. A ficha técnica das duas alimentações fornecidas pode ser consultada no anexo B. A primeira ração era essencialmente constituída por carbonato de cálcio e sepiolita (suporte), bagaço de soja 44% extratado, trigo, milho, fosfato bicálcico, óleo vegetal à base de soja, sal, metionina, antioxidantes, vitaminas e conservantes.

A segunda ração administrada era maioritariamente composta por milho, bagaço de soja torrada obtido por extração, carbonato de cálcio, fosfato dibásico de cálcio e cloreto de sódio. A razão da mudança de ração durante o estudo deveu-se ao facto de a empresa que facultou os gastrópodes terrestres ter alterado o seu fornecedor de alimentação, por razões de logística.

As duas rações não diferem muito na sua constituição, existindo apenas diferenças na moagem e na cor (a segunda ração apresentava uma moagem mais fina e uma cor mais esbranquiçada). Esta alteração foi efetuada no final da otimização do fornecimento de alimentação, à base de ração. Como as alimentações não diferiam muito na sua constituição admitiu-se que não seria necessário efetuar novo estudo para averiguar qual a quantidade ideal de ração a ser utilizada, o que se veio a verificar legítimo durante a administração da segunda ração ao longo do estudo.

A troca de alimentação foi efetuada de forma gradual, durante cinco dias, usando percentagens diárias diferentes das duas rações na alimentação dos caracóis. As quantidades de ração foram pesadas numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*) em vidros de relógio e espalhadas uniformemente pelo suporte de alimentação, em cada *Kit*, com o auxílio de uma colher.

Na primeira semana do estudo, foi colocado no *Kit* 1 um copo de vidro contendo turfa biológica prensada (com 6,3 cm de altura), fornecida pela empresa *MiranHélix, Lda.*. A mesma empresa mencionou que os espécimes já tinham atingido a maturidade para acasalamento, sendo provável observar a cópula entre dois espécimes. Esta suspeita veio a confirmar-se tendo-se verificado o acasalamento, a cópula e a postura, realizada pelos espécimes adultos do *Kit* 2. Após a postura dos ovos, estes foram retirados cuidadosamente do interior da turfa contida no copo para postura, com auxílio de uma espátula, pois os espécimes adultos fazem um orifício de até 4 cm de profundidade para postura dos ovos (Haddad, 2004).

Esses ovos foram transferidos para uma caixa hexagonal com tampa perfurada (feita em PET e com 6,2 cm de aresta lateral e 7,0 cm de altura), contendo 4,1 cm, em altura, de turfa biológica prensada, a qual se denominou por caixa de incubação. Os ovos foram colocados no topo da turfa biológica para facilitar a eclosão dos mesmos, tal como sugerido pela empresa *MiranHélix,Lda.*. Na Figura 2.4 encontram-se fotografias da caixa de incubação com os ovos sobre a turfa biológica prensada e o copo utilizado para postura dos mesmos.

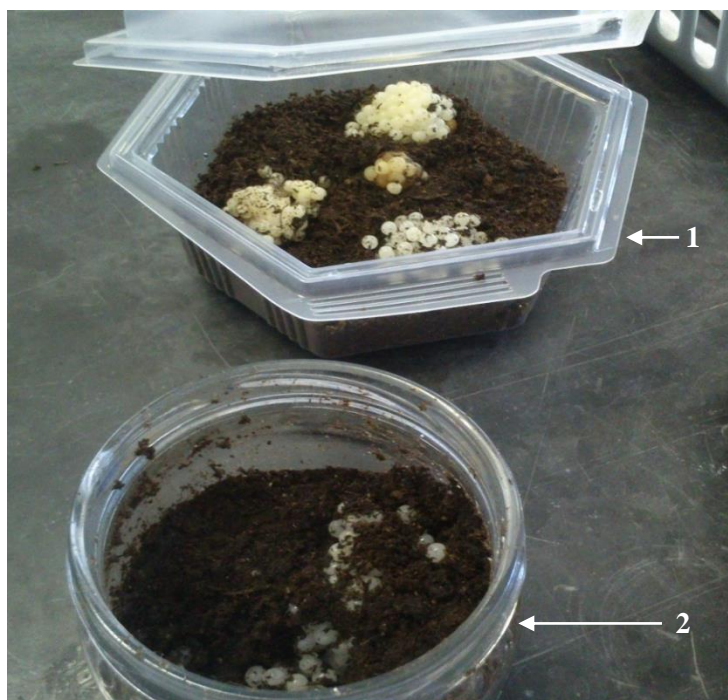


Figura 2.4 – Ilustração do copo para postura de ovos e da caixa de incubação. 1= caixa de incubação; 2= copo para postura.

Determinou-se a massa de trinta ovos provenientes da mesma postura numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*) e, posteriormente, observou-se a eclosão dos alevins. Os alevins foram colocados numa nova caixa de confinamento (em LDPE, com tampa perfurada, com 32,3 cm de comprimento, 20,2 cm de largura e 18,0 cm de altura), que se identificou por *Kit 3*.

A monitorização do crescimento destes alevins nascidos em laboratório, com progenitores a serem alimentados exclusivamente à base de ração, foi efetuada e comparada com o crescimento dos alevins do *Kit 1*, nascidos na empresa *MiranHélix,Lda.* onde a alimentação é mais diversificada. O copo com a turfa biológica foi removido do *Kit 1* uma semana antes de se iniciar o processo de otimização do tempo de extração de baba de caracol, para prevenir um desgaste desnecessário por procriação dos gastrópodes terrestres durante a extração de baba.

2.3. Otimização da Extração e Purificação da Baba de Caracol

Após a otimização da alimentação dos gastrópodes e o repouso necessário para a recuperação da massa corporal dos gastrópodes terrestres adultos após o acasalamento, iniciou-se o estudo do processo de extração da baba de caracol e otimização do seu tempo. Previamente a cada extração realizada, onde o contacto humano era inevitável, os caracóis foram habituados a esse contacto, para redução de qualquer fator de *stress* indesejado (Skingsley *et al.*, 2000).

O processo de habituação ao contato humano em moluscos é relativamente rápido, desde que o estímulo provocado não seja invasivo para o espécime (Skingsley *et al.*, 2000). Caso não seja realizada esta pré-adaptação, os moluscos e, especialmente os gastrópodes, têm tendência a uma produção de baba defensiva com propriedades distintas da que habitualmente é segregada (Skingsley *et al.*, 2000). Antes de cada processo de extração de baba, cada caracol era submetido a um dia de abstinência alimentar para minimizar a contaminação da baba extraída.

2.3.1. Processos de extração tradicionais

Numa primeira fase foram utilizados alguns métodos mais usuais de extração, que foram designados por métodos tradicionais. Foram sugeridos alguns métodos pela empresa *MiranHélix,Lda* e que *à priori* foram considerados válidos para a extração da baba de caracol.

Os três métodos sugeridos pressupunham um processo de extração de baba por: fricção ao nível do pé do gastrópode com um pincel; fricção ao nível do pé do gastrópode com uma espátula e utilização de uma lixa na parte inferior da caixa de confinamento para proporcionar o estímulo contínuo de cada espécime durante a sua locomoção.

Em relação ao processo com utilização de uma lixa no fundo da caixa de confinamento, foram discutidas as consequências antes da sua aplicação, tendo sido descartada a sua implementação por ser um processo bastante invasivo. O caracol provavelmente não se iria locomover para procurar alimentação o que poderia levar à sua morte após longo desgaste e subnutrição.

Tal como referido por diversos autores (Skingsley *et al.*, 2000; Mediavilla, 2008), em condições adversas ou invasivas, o gastrópode tem tendência a contrair-se e a permanecer no mesmo local pelo excesso de estímulo provocado ou a produzir uma baba defensiva, em forma de espuma.

Os métodos de extração de baba utilizando a fricção ao nível do pé do gastrópode com um pincel ou com uma espátula, foram considerados desajustados logo quando testados. Quando se utilizava a espátula, os gastrópodes retraíam-se ao seu contato, impossibilitando a fricção desejada. Utilizando o pincel para a extração de baba de caracol, verificou-se uma produção significativa, mas de difícil remoção da baba do pincel para o seu posterior armazenamento.

Ainda no âmbito das extrações de baba consideradas tradicionais, o processo de extração mais usual que se encontra na bibliografia, é utilizando a fricção ao nível do pé de gastrópodes com uma vareta de vidro (Levene, 1925; Skingsley *et al.*, 2000; Gabriel *et al.*, 2011).

Como os alevins ainda não se apresentavam desenvolvidos para lhes ser extraída baba, foram efetuadas dezanove extrações de baba por fricção ao nível do pé dos gastrópodes terrestres adultos, a cada espécime do *Kit 2*, recorrendo a uma vareta de vidro, durante dez minutos, para gobelés de vidro. As amostras de baba recolhidas por este processo de extração foram identificadas como (EV). O tempo de extração de 10 minutos foi estipulado de acordo com o único tempo de extração que foi possível obter da bibliografia (Abad, 1996; Wang *et al.* 2010).

Durante o processo de extração de baba, registou-se o número do espécime, a massa dos espécimes antes e depois da extração, a massa do gobelê para recolha da baba, a massa do gobelê contendo a baba produzida e a massa da vareta de vidro antes e depois de ser usada na extração (para contabilizar a eventual baba aprisionada na vareta de vidro). As massas foram obtidas usando uma balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*).

Mediram-se, ainda, os valores da temperatura ambiente e da humidade ambiente durante o processo de extração, usando um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda*. O tempo inicial de produção de baba, o tempo inicial de retração do espécime e o tempo de produção de baba após paragem do estímulo foram medidos com um cronómetro digital.

Considerando que o único tempo indicado na bibliografia (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010) para a extração de baba não apresenta indícios de ter sido objeto de otimização, tendo sido apenas retirada baba durante 10 minutos, foi considerado interessante efetuar a sua otimização para a extração utilizando a fricção ao nível do pé do gastrópode com uma vareta de vidro. Esta otimização deveria ter sido feita antes das extrações de baba com auxílio de uma vareta de vidro terem sido implementadas regularmente, mas só surgiu a ideia de um método exequível já numa fase avançada do estudo, após realização da extração de baba de caracol, por centrifugação.

A otimização foi realizada num total de dois dias, com oito espécimes do *Kit 4'* (*Kit* apresentado posteriormente na secção 2.3.3). A metodologia utilizada foi semelhante à anteriormente descrita, sendo anotados de minuto a minuto, durante 20 minutos a cada espécime, o valor da massa do espécime, da massa do gobelê antes e depois da recolha de baba e da massa da vareta de vidro antes e depois da otimização do tempo de extração. Registou-se, ainda, a temperatura ambiente e a humidade ambiente durante a recolha, o tempo inicial de produção de baba pelo espécime, o tempo de retração do espécime durante a extração e o tempo de produção de baba após paragem de estímulo, apresentados no anexo F. As amostras foram identificadas por (OV).

2.3.2. Processo de extração por sucção dos gastrópodes terrestres

Após a utilização de algumas técnicas tradicionais de extração de baba, surgiu a ideia de que seria interessante avaliar o resultado de espécimes serem submetidos a uma sucção ao nível do pé, por forma a estimular as células glandulares na produção de baba. Este processo de extração de baba foi implementado com o auxílio de uma bomba de vácuo, conectada ao bocal lateral de um balão de *Büchner* de 250 mL. A ligação da bomba de vácuo com o balão de *Büchner* foi realizada com um tubo em plástico (LDPE, com 70,2 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro interno). A pressão utilizada na bomba foi de 0,6 bar, obtida no barómetro da própria bomba.

O balão encontrava-se tapado com uma rolha de cortiça perfurada no centro. Um tubo em plástico (9,2 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro interno) foi colocado no orifício central da rolha de cortiça, atravessando também uma base de suporte (LDPE com 5,6 cm de diâmetro), perfurada ao centro e colocada sobre a rolha, onde o espécime era colocado para extrair baba. O balão de *Büchner* encontrava-se seguro por uma garra de metal fixa a uma base de suporte.

Para efetuar extrações de baba pelo processo de extração utilizando sucção ao nível do pé dos gastrópodes terrestres, foram solicitados quinze espécimes *Helix aspersa máxima*, na fase adulta, à empresa *MiranHélix, Lda.*. Estes novos espécimes foram identificados e colocados numa caixa, denominada por *Kit 4*, feita em LDPE, com tampa perfurada, com 32,3 cm de comprimento, 20,2 cm de largura e 18,0 cm de altura. Foram efetuadas trinta extrações de baba por aspiração ao nível do pé do gastrópode, durante dez minutos a cada espécime. As amostras de baba obtidas por este método foram identificadas como (EA). Na Figura 2.5 é possível verificar a montagem usada para extração de baba por sucção ao nível do pé do caracol.

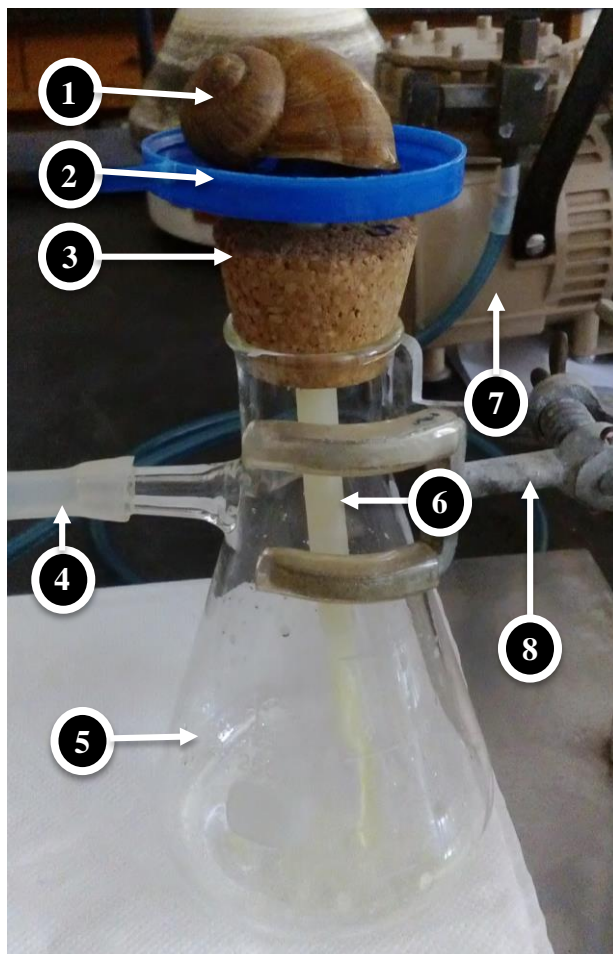


Figura 2.5 – Esquema do sistema usado na extração da baba por aspiração ao nível do pé dos gastrópodes. 1= caracol; 2= base de suporte para o gastrópode; 3= rolha de cortiça perfurada; 4= tubo de conexão entre a bomba de vácuo e o balão de Büchner; 5= balão de Büchner; 6= tubo de sucção da baba; 7= bomba de vácuo; 8= garra de metal para fixar do balão de Büchner.

Tal como nos processos de extração de baba tradicionais, registou-se o número dos espécimes, a massa dos espécimes antes e depois da extração e a massa do conjunto balão de Büchner, suporte e tubo de sucção da baba, antes e depois do processo de extração de baba realizado.

Para a determinação das massas utilizou-se uma balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*). Os valores da temperatura e da humidade ambiente durante a extração foram medidos com um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda*. Um cronómetro digital foi usado para registar o tempo inicial de produção de baba pelo espécime durante a extração, o tempo inicial de retração do espécime durante a extração e o tempo de paragem de produção de baba.

Como o tempo indicado na bibliografia (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010) para extração de baba não apresentava indícios de ter sido otimizado, considerou-se que seria interessante otimizar o tempo para a extração utilizando uma sucção ao nível do pé dos gastrópodes. A otimização do processo deveria ter ocorrido antes de se ter iniciado intensivamente as extrações, mas só surgiu a ideia de um método exequível para a sua determinação, já numa fase avançada do estudo. A otimização do tempo de extração foi realizada com oito espécimes do *Kit 4* durante três dias.

Para cada espécime foram registados de minuto a minuto, durante 20 minutos, os valores da massa do espécime, da massa do conjunto composto por balão de *Büchner*, suporte e tubo de sucção da baba e a massa do mesmo conjunto com a baba de caracol produzida.

As massas foram obtidas com uma balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*). Registou-se, ainda, a temperatura e a humidade ambiente durante a recolha, obtidos com um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda*, o tempo inicial de produção de baba, o tempo inicial de retração e o tempo de produção de baba após paragem de estímulo, obtidos com um cronómetro digital. As amostras de baba recolhidas foram denominadas por (OA).

A 26 de março de 2015 foi colocado novamente o copo com a turfa biológica no *Kit 4* de forma a obter novos alevins para redistribuição por *Kits* individualizados. Após postura, os ovos foram transferidos para a caixa de incubação, também contendo turfa biológica, até à sua eclosão. Decorrida a eclosão dos ovos, foram colocados sete novos alevins, provenientes das novas posturas, em diferentes caixas de confinamento (em PET, com tampa perfurada, com 20,4 cm de comprimento, 14,6 cm de largura e 5,4 cm de altura). Este procedimento teve como objetivo poder efetuar medições individuais a alevins, visto que o seu pequeno porte não permitia uma identificação de forma análoga aos gastrópodes adultos, dificultando a sua monitorização.

2.3.3. Processo de extração por centrifugação dos gastrópodes terrestres

Tendo conhecimento de que um dos métodos utilizados a nível industrial para a extração de baba de caracol é a centrifugação dos espécimes (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), procedeu-se à otimização do tempo de extração por centrifugação dos espécimes contidos no *Kit 4*, após um tempo de repouso para ganho de massa corporal. A extração foi efetuada com o auxílio de uma centrífuga (*Jouan B4 in*) a 2000 rpm, tendo colocado os gastrópodes no interior de suportes destinados para a centrífuga. A otimização do tempo de extração por centrifugação dos gastrópodes terrestres foi realizada com oito espécimes, durante dois dias.

De forma análoga ao procedimento descrito para a otimização do tempo de extração por sucção, de minuto a minuto, durante cerca de 20 minutos para cada espécime, foi registada a sua massa e a massa do suporte de centrífuga antes e depois de recolhida a baba, numa balança de precisão (*Mettler Toledo AB204*). De salientar que o modelo da centrífuga utilizada apresenta um tempo adicional na paragem da rotação, após o *setpoint* programado. Registou-se, ainda, a temperatura e a humidade ambiente durante o processo de extração de baba (*Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda*) e os tempos de centrifugação e de produção de baba após paragem de estímulo (cronómetro digital). As amostras de baba obtidas foram identificadas por (OC).

Nesta fase, os gastrópodes adultos do *Kit 2* já tinham falecido por causas naturais e os que tinham sido submetidos à otimização do tempo de extração por centrifugação também faleceram um dia após os ensaios. Dessa forma, a empresa *MiranHélix, Lda.* forneceu vinte e quatro espécimes adultos da espécie *Helix aspersa máxima* para a realização de novos ensaios de extração por centrifugação para obtenção de baba. Estes novos espécimes foram identificados e colocados numa caixa em LDPE, com tampa perfurada e dimensões de 32,3 cm de comprimento, 20,2 cm de largura e 18,0 cm de altura, denominada por *Kit 4'*.

Após a otimização do método de extração por centrifugação dos gastrópodes, foram efetuadas oito extrações de baba por centrifugação a espécimes do *Kit 4'*, na mesma centrífuga a uma velocidade de 2000 rpm, durante dez minutos, a cada espécime (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). As amostras de baba recolhidas por este método de extração foram identificadas como (EC).

Para quantificação do processo de extração, registou-se o número do espécime, a massa do espécime, a massa do suporte de centrífuga sem e com a baba recolhida. Registou-se, ainda, a temperatura e a humidade ambiente durante a extração e o tempo de produção de baba após paragem de estímulo. Para o efeito usou-se uma balança de precisão (*Mettler Toledo AB204*), um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda* e um cronómetro digital. Não foram efetuadas mais extrações por este processo, pois os caracóis sofreram lesões consideráveis.

2.3.4. Processo de extração por sucção dos gastrópodes terrestres com adição de água durante o processo de extração

A hidratação do caracol, não só após, mas principalmente durante o processo de extração, é um fator preponderante para o seu bem-estar (Colognesi *et al.*, 2013). Utilizando a mesma metodologia de administração de água no processo de extração de baba que Colognesi, foi extraída baba por um processo de sucção ao nível do pé do caracol, com adição de água destilada ao gastrópode terrestre, durante o processo de extração (Colognesi *et al.*, 2013).

Para esse efeito, foi colocada uma bureta (50 mL \pm 0,05 mL) com água destilada sobre a concha do gastrópode terrestre, permitindo a sua hidratação ao longo do processo de extração. Antes da extração os caracóis foram lavados com água da rede pública para limpeza de qualquer sujidade agregada ao espécime. Esperou-se uma hora antes de dar início ao processo de extração, para que se atingisse o equilíbrio da humidade corporal em cada espécime estudado.

A otimização do tempo de extração foi realizada com oito espécimes do *Kit 4'*, durante um total de dois dias. As grandezas registadas durante o processo de otimização do tempo de extração da baba de caracol foram já indicadas anteriormente na secção 2.3.2, para a extração por sucção sem hidratação dos caracóis. As amostras recolhidas durante a otimização do tempo de extração foram identificadas por (OAH). Os valores complementares à otimização do tempo de extração referida apresentam-se em anexo (ver anexo G). Após a otimização do tempo de extração, as amostras de baba de caracol foram secas forçando a passagem de ar seco através dos balões de *Büchner* contendo a baba de caracol obtida durante o processo de extração referido.

Este processo de secagem foi escolhido em detrimento da secagem térmica visto que as proteínas da baba sofrem uma desnaturação acima de 60°C e o tempo de secagem seria maior, para temperaturas abaixo desse valor. Previamente ao processo de secagem, o conjunto de suporte dos espécimes com o tubo de sucção (ver Figura 2.5) foi lavado com 2,00 mL de água destilada adicionada com uma bureta (50 mL \pm 0,05 mL) para cada ensaio. A Figura 2.6 apresenta o esquema da montagem usada no processo de secagem de baba de caracol.

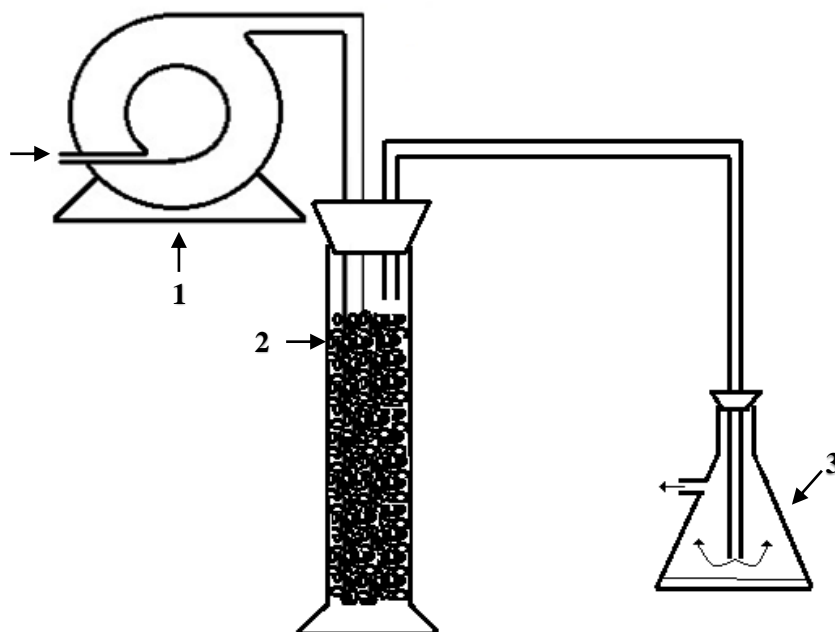


Figura 2.6 - Esquema da montagem para a secagem da amostra de baba recolhida por sucção com hidratação dos caracóis. 1= bomba; 2= Proveta contendo sílica gel; 3= balão de Büchner com a amostra de baba.

Colocou-se sílica gel seca no interior de uma proveta de vidro (1L \pm 10 mL) que foi tapada com uma rolha de cortiça perfurada com dois furos. A sílica gel foi previamente seca numa estufa (*Nahita Drying Oven Model 631 plus*). Um tubo de plástico (70,2 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro interno) foi inserido através de um dos furos na rolha de cortiça, estando uma das extremidades ligada à bomba e a outra extremidade junto à base da proveta. A bomba utilizada no processo de secagem foi a mesma que no processo de extração de baba de caracol por sucção.

Um outro tubo de plástico (40,3 cm de comprimento e 0,5 cm de diâmetro interno) foi inserido no outro furo da rolha e posicionado 1 cm acima do topo da sílica gel. Tapou-se o balão de Büchner, com a amostra, com uma rolha perfurada no centro e inseriu-se o tubo proveniente da proveta de vidro de 1 L. Na Figura 2.7 encontra-se uma fotografia com a baba seca.

A baba foi seca até que o balão de Büchner apresentasse uma massa constante. Após a otimização do tempo de extração de baba por sucção com adição de água destilada ao caracol, foram efetuadas 21 extrações de baba, por este processo, durante 10 minutos, a cada espécime do *Kit 4'*. As amostras de baba recolhidas por este processo de extração foram identificadas como (EAH). Obtiveram-se ainda os valores da temperatura ambiente e da humidade ambiente durante a extração com auxílio de um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant com sonda*. Os valores complementares encontram-se apresentados em anexo (ver anexo I).

Registou-se o número de cada espécime, a sua massa antes e depois da extração, a massa do conjunto balão de *Büchner*, suporte do espécime e tubo de sucção da baba, sem e com a baba. Estes valores foram obtidos com o auxílio de uma balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*).



Figura 2.7 – Baba de caracol após o processo de secagem.

Registou-se, ainda, o volume de água administrado durante o processo de extração com a bureta de vidro, o tempo inicial de produção de baba pelo espécime durante a extração, o tempo de retração e o tempo de produção de baba após paragem de estímulo com um cronómetro digital. Na Figura 2.8 encontra-se uma fotografia com a baba obtida por este processo, a um caracol.



Figura 2.8 – Baba de caracol obtida por sucção de um gastrópode terrestre, com adição de água destilada durante o processo.

A monitorização dos gastrópodes terrestres foi concluída no dia 31 de julho de 2015, obtendo um total de registos correspondentes a 39 semanas. Contudo, os alevins não atingiram massa corporal suficiente para extração de baba, acima de 7 g (Espinoza e Schwartzman, 2007), impossibilitando comparações entre espécimes criados em laboratório e no seu habitat natural.

De salientar que, apesar de terem sido realizadas otimizações ao tempo de extração de baba de caracol, foi estipulado um tempo de extração de 10 minutos para todos os ensaios, de todos os processos de extração estudados. Assim, foi facilitada a comparação da quantidade de baba produzida entre cada processo estudado e a posterior comparação com dados bibliográficos.

2.3.5. Extração de baba para realização de análises físico/químicas

A 7 de setembro de 2015 foi proposto à empresa *MiranHélix, Lda.* o fornecimento de trinta espécimes adultos da espécie *Helix apersa máxima* de modo a realizar extrações de baba por sucção ao nível do pé, com administração de água destilada, a gastrópodes provenientes diretamente das estufas da empresa. A entrega foi dividida em duas etapas, com o fornecimento de 15 espécimes por semana, cujo nascimento ocorreu na época outono-inverno de 2014.

As extrações realizadas coincidiram com o período de purga e secagem dos espécimes, realizado pela empresa *MiranHélix, Lda.*, para posterior comercialização dos gastrópodes terrestres. Os primeiros quinze espécimes entregues tinham sido colocados na empresa em parques com vegetação, mas sem ração disponível, durante um dia. Já os restantes quinze espécimes foram submetidos pela empresa a um processo de purga durante 3 dias, sendo interrompida antes do processo de secagem. Foram efetuadas extrações de baba através de sucção ao nível do pé com adição de água destilada aos gastrópodes, durante dez minutos a cada espécime. As amostras recolhidas por este processo foram identificadas como (EAHS). Registou-se o número e a massa de cada espécime antes e depois da extração, a massa do conjunto balão de *Büchner*, suporte do espécime e tubo de sucção, sem e com a baba, o volume de água administrado, tal como já indicado anteriormente na secção anterior. Os valores complementares registados durante o processo citado, podem ser visionados no anexo J.

Cada lote de espécimes fornecido foi ainda submetido, a um processo de extração de baba através de sucção ao nível do pé dos caracóis, sem hidratação. Neste caso, foram colocados tubos de ensaio no interior dos balões de *Büchner* de 250 mL, acoplados ao tubo de plástico de sucção da baba, permitindo diminuir as perdas associadas às transferências entre recipientes. Os tubos de ensaio foram previamente lavados, passados com uma solução de ácido sulfúrico de 30% (v/v), lavados novamente com detergente e limpos de seguida com água destilada para eliminação de possível carga orgânica nos tubos de ensaio. Este processo de extração foi realizado sem adição de água destilada para posteriormente comparar os resultados das análises físico/químicas obtidos com baba proveniente de dois métodos de extração diferentes, aos mesmos espécimes. Estas amostras de baba foram identificadas como (EB). Os trinta espécimes foram devolvidos novamente à empresa, onde foram colocados num processo de engorda.

2.3.6. Processo de purificação da baba extraída

Tendo completado todo o processo de extração de baba de caracol, foi necessário proceder à sua purificação. Neste processo de purificação foram utilizadas as amostras de baba obtidas de gastrópodes terrestres provenientes diretamente das estufas da empresa *MiranHélix, Lda.*, mencionados na secção anterior. A purificação das amostras consistiu num processo de centrifugação seguida de um processo de filtração do sobrenadante. O processo de centrifugação, a 2000 rpm durante 10 minutos foi realizado numa centrífuga *Hettich EBA III*, sendo recomendado, no entanto, o uso de uma centrífuga com suportes de funis de decantação para facilitar na posterior separação do sobrenadante da baba (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Para proceder à centrifugação, as amostras de baba (EAHS) foram transferidas do balão de *Büchner* para tubos de ensaio, também lavados tal como descrito na secção 2.3.5.. Terminado o processo de centrifugação, o sobrenadante da amostra foi sujeito a um processo de filtração recorrendo a um sistema de filtração contendo Microfiltros, *Whatman - Glass Microfiber Filters GF/C* de 47 mm de diâmetro e uma porosidade de 1,2 µm.

Apesar de a porosidade do microfiltro usado ser um pouco superior à indicada na literatura, que é de até 1 µm (Abad,1996; Wang *et al.*, 2010), conseguiu-se a eliminação de grande parte de nematodes, trematodes e de fungos presentes na baba, visto que apresentam diâmetros superiores à porosidade do microfiltro. No entanto, a presença de bactérias na baba revela que o indicado seria a utilização de microfiltros com porosidade inferior a 0,5 µm, visto que é o mínimo diâmetro apresentado pelas bactérias presentes na baba(Hickman *et al.*, 2001).

O teor bacteriológico foi ainda diminuído com posterior congelação das amostras obtidas dos ensaios realizados. O microfiltro era colocado no sistema de filtração e eram adicionados 3 mL, por duas vezes, de sobrenadante de cada amostra com o auxílio de uma micropipeta de 5 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*), perfazendo, assim, um total de 6 mL de amostra a filtrar. A baba de caracol filtrada era recolhida num balão de *Büchner* de 250 mL que se encontrava ligado no bocal lateral a uma bomba de vácuo. A filtração era realizada durante cerca de duas horas de modo a que cada microfiltro se encontrasse sem humidade visível. Finalizado o processo de filtração, as amostras de baba filtrada eram transferidas para tubos *falcon*.

As amostras de baba de caracol submetidas a um processo de centrifugação e filtração foram identificadas como (EBCF). O sistema de filtração era lavado entre cada utilização, sendo posteriormente passado, por três vezes, com 20 mL de água destilada. Tanto o sistema de filtração como os microfiltros eram posteriormente secos numa estufa (*Nahita Drying Oven Model 631 plus*) para eliminar a água destilada adicionada durante a lavagem.

2.4. Análises Físico/Químicas à Baba de Caracol

A grandeza de algumas propriedades físico/químicas da baba de caracol é um fator preponderante não só para incorporação em cosméticos, como na sua certificação comercial. Neste estudo foram efetuados ensaios para determinação da massa volúmica e pH da baba de caracol obtida por extração através de sucção dos gastrópodes (EB), da baba obtida por extração através de sucção dos gastrópodes, provenientes diretamente da empresa (EAHS) e da mesma baba depois de submetida a um processo de centrifugação e filtração (EBCF). Determinou-se, ainda, os valores de viscosidade da baba de caracol para as amostras (EAHS) e (EBCF). Foram realizados ensaios para determinação da concentração de proteínas e de açúcares totais presentes nas amostras (EB) e (EBCF), para comparação de baba com e sem purificação.

2.4.1. Determinação do pH da baba de caracol

As medições de pH foram obtidas mergulhando um eletrodo do medidor de pH (*Metrohn 691 pH Meter tipe 1.691.0010*) nas amostras de baba até que o valor se apresentasse estável.

Foram obtidos valores de pH em triplicado, com lavagem do elétron com água destilada e álcool etílico entre cada medição. A utilização do álcool etílico na lavagem auxiliou a remoção da carga proteica que poderia danificar a sonda, tal como referido no manual de utilização do aparelho utilizado. Foram medidos os valores de pH para os ensaios (EAHS), (EBCF) e (EB). É de salientar que os tubos de ensaio onde se armazenaram as amostras de baba foram previamente lavados, limpos com ácido sulfúrico a 30,0% (v/v) para eliminação de quaisquer microrganismos, lavados novamente, passados com água destilada e secos numa estufa.

2.4.2. Determinação da massa volúmica da baba de caracol

A massa volúmica foi determinada com dois picnómetros de ± 25 mL de numeração 9G e 19G. Previamente, foi feita uma calibração dos dois picnómetros determinando a massa dos picnómetros vazios, limpos e secos e a massa dos picnómetros completamente preenchidos com água destilada, à temperatura ambiente, numa balança de precisão (*Mettler AE200*). Foi, assim, possível calcular o volume exato dos dois picnómetros usados neste estudo. Após lavagem e secagem dos picnómetros, foi obtida a massa dos picnómetros com as amostras de baba (EB), (EAHS) e (EBCF) na mesma balança. Como a quantidade de baba obtida de um só espécime não era suficiente para perfazer o volume dos picnómetros adicionadas as amostras de baba, extraídas de vários espécimes, usando baba obtida pelo mesmo processo de extração.

Desse modo, transferiu-se 1,67 mL (com auxílio de uma micropipeta de 5 mL) de cada amostra, das amostras de baba (EAHS1) a (EAHS15) para um tubo *falcon* e 1,67 mL de cada amostra, das amostras de baba (EAHS16) a (EAHS30) para outro tubo *falcon*. Para o conjunto de amostras de (EBCF), transferiu-se 1,79 mL (com auxílio de uma micropipeta de 5 mL) de cada amostra, das amostras de (EBCF2) a (EBCF15) para um tubo *falcon* e 1,67 mL de cada amostra, das amostras de (EBCF16) a (EBCF30) para outro tubo *falcon*. Transferiram-se os conjuntos de amostras para os picnómetros e pesaram-se numa balança de precisão (*Mettler AE200*). As determinações foram feitas em duplicado, em cada picnómetro, a diferentes temperaturas de 15,0°C, 20,0°C, 25,0°C, 30,0°C e 35,0°C, reguladas num banho termoestabilizado.

Como o volume de cada amostra (EB) era muito pequeno, juntaram-se as amostras de (EB1) a (EB30) num gobelé de 50 mL e encheu-se o picnómetro de número 9G para determinação da massa volúmica. Posteriormente, transferiu-se o conteúdo do picnómetro para o picnómetro de número 19G, perfazendo o volume com a amostra de baba que se encontrava ainda no gobelé de 50 mL. Assim, a determinação da massa volúmica das amostras (EB), obtida em duplicado em cada picnómetro, para as temperaturas de 15,0°C, 20,0°C, 25,0°C, 30,0°C e 35,0°C.

2.4.3. Determinação da viscosidade da baba caracol

Após a determinação da massa volúmica das amostras de baba de caracol extraída, foi medida a viscosidade das amostras de baba denominadas por (EAHS) e (EBCF). Da literatura, sabe-se que a baba de caracol é um fluido viscoelástico, sofrendo simultaneamente deformações elásticas e viscosas na sua deformação (Denny, 1984; Ewoldt *et al.*, 2007; Lai *et al.*, 2010).

Por se tratar de um fluido não newtoniano, a medição da viscosidade deveria ser determinada com um viscosímetro de cilindro coaxial, próprio para fluidos não-newtonianos (Lipták, 1999). Como as amostras de baba apresentavam uma baixa concentração, pela adição de água destilada durante o processo de extração, admitiu-se que o comportamento do fluido testado era próximo do comportamento de um fluido newtoniano. Assim, mediu-se a viscosidade das amostras em viscosímetros capilares. Num balão volumétrico de $100 \text{ mL} \pm 0,1 \text{ mL}$ preparou-se uma solução de sacarose a 20% (w/w) que seria usada na calibração dos dois viscosímetros, pois trata-se de uma solução com viscosidade conhecida e tabelada na bibliografia (Perry *et al.*, 2008). Na Figura 2.9 encontra-se uma fotografia do banho termoestatizado utilizado e os viscosímetros mergulhados no banho termoestatizado, para determinação da viscosidade da baba de caracol.

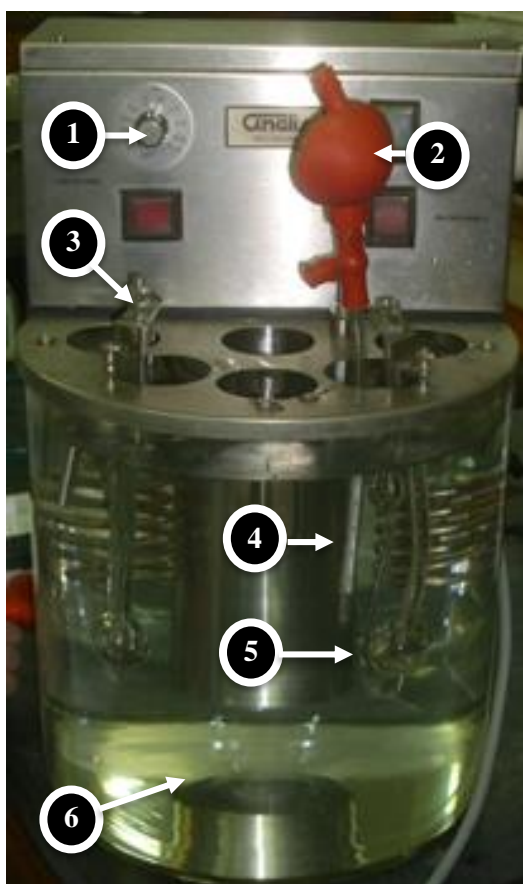


Figura 2.9 – Esquema do sistema utilizado para determinação da viscosidade da baba de caracol. 1= aparelho de regulação da temperatura do banho; 2= pera de sucção; 3= suporte dos viscosímetros; 4= termômetro analógico para controle da temperatura; 5= viscosímetro capilar; 6= banho de água termoestatizado.

Iniciou-se a calibração de dois viscosímetros capilares nº 50, (ref. nº 13470 e nº 13478), com uma solução aquosa de sacarose a 20% (w/w), a cinco temperaturas diferentes. Com auxílio de um refrigerador (*Techne Dip Cooler RU-200*), mergulhado num banho de água, foi possível manter a temperatura da água do banho termoestatizado, a $20,0^{\circ}\text{C}$. Como no dia de realização dos ensaios não foi possível obter a temperatura de 15°C no banho termoestatizado, as temperaturas utilizadas na calibração, com a solução aquosa de sacarose, foram de $20,0^{\circ}\text{C}$, $22,0^{\circ}\text{C}$, $25,0^{\circ}\text{C}$, $30,0^{\circ}\text{C}$ e $35,0^{\circ}\text{C}$. Com o auxílio de uma pipeta graduada de $10 \text{ mL} \pm 0,02 \text{ mL}$, introduziu-se $6,5 \text{ mL}$ da solução sacarose em cada viscosímetro, pelo tubo de maior diâmetro.

Colocaram-se os viscosímetros capilares, na vertical, no interior do banho, a 20,0°C para que a superfície livre da água do banho estivesse pelo menos a 1 cm acima do reservatório mais pequeno de cada viscosímetro. Após atingir o equilíbrio térmico e com a ajuda de uma pera de sucção, colocada no tubo de menor diâmetro, aspirou-se a solução até que a sua superfície livre ficasse a cerca de 1 cm acima da marca situada entre os dois reservatórios mais pequenos dos viscosímetros. Mediu-se o tempo de escoamento da solução de sacarose entre as duas marcas de cada viscosímetro. Procedeu-se de igual modo para as restantes temperaturas tendo em especial atenção o equilíbrio térmico entre cada medição. Após a determinação do tempo de escoamento da solução de sacarose, determinou-se a constante K de cada viscosímetro.

Para a determinação da viscosidade da baba de caracol obteve-se o tempo de escoamento de cada conjunto de amostras, utilizada na determinação das massas volúmicas, às temperaturas de 15,0°C, 20,0°C, 25,0°C, 30,0°C e 35,0°C, procedendo de modo análogo à medição do tempo de escoamento da solução aquosa de sacarose a 20%, já descrito anteriormente.

Com as massas volúmicas das amostras de baba determinadas às diferentes temperaturas, usando a técnica de picnometria anteriormente referida, e com os tempos de escoamento das diferentes amostras de baba e a constante de cada viscosímetro, entretanto determinada, calculou-se a viscosidade cinemática e a viscosidade dinâmica para cada amostra de baba.

2.4.4. Determinação da concentração de proteínas na baba extraída

Realizadas as medições de pH, e antes da determinação da massa volúmica e viscosidade da baba, procedeu-se à determinação da concentração proteica. Estas análises foram realizadas com as amostras de baba (EB) e (EBCF). O método utilizado para determinação de proteínas foi o método sugerido por Bradford (Bradford, 1976). Previamente, preparou-se uma solução do reagente de *Coomassie Brilliant Blue*. A descrição da preparação desta solução apresenta-se no anexo K. Para determinação da concentração proteica na baba por espectrofotometria, houve necessidade de obter uma curva de calibração com uma proteína de padrão conhecido.

Foi utilizada albumina de soro bovino (ABS) para obter a curva de calibração da concentração de proteínas presentes na baba. A descrição de preparação das soluções padrão usadas para obter a curva de calibração encontra-se no anexo K. As densidades óticas das soluções padrão preparadas foram lidas, a 595 nm, na zona do visível, num espectrofotómetro *Unicam Helios γ* .

Com uma *cuvette* de vidro efetuou-se previamente o zero com a amostra do branco e só em seguida foram lidas as densidades óticas das soluções padrão, lavando a *cuvette* com água destilada e intercalando com lavagens com álcool etílico, entre cada medição. A representação da curva de calibração obtida com albumina de soro bovino encontra-se descrita no anexo K.

Para a medição da concentração das proteínas foi necessária, ainda, a preparação de uma solução de hidróxido de sódio a 0,3 N, para neutralização da baba de caracol (Fountain e Campbell, 1984). Foi adicionado 0,1 mL de cada amostra de baba (EB) e (EBCF) a tubos de ensaio com o auxílio de uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*).

Adicionou-se 0,05 mL da solução de hidróxido de sódio preparada, com uma micropipeta de 0,1 mL (*Accupet Pro*), a cada tubo de ensaio e, ainda, com uma micropipeta de 5 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*), foi adicionado o volume de 5 mL de reagente *Coomassie Brilliant Blue*. As amostras foram preparadas em triplicado, agitando cada tubo de ensaio num *vortex* (*Nahita 681/5 Code 50681500*) antes da leitura da densidade ótica no espectrofotómetro.

2.4.5. Determinação da concentração de açúcares totais na baba extraída

A determinação dos açúcares totais presentes nas amostras de baba foi realizada com base no método proposto por Dubois *et al.* (1956), denominado método fenol-sulfúrico (Lorenzi e Martins, 2008; Albalasmeh *et al.*, 2013). Estas análises apenas foram realizadas com as amostras de baba (EB) e (EBCF), posteriormente à determinação do pH e da concentração de proteínas e antes da determinação dos valores de massa volúmica e viscosidade da baba obtida.

Para implementar o método referido, foi necessário preparar uma solução de fenol a 5% (w/v). Tanto para a preparação desta solução como para todos os ensaios na determinação da concentração de açúcares foi necessário o uso de luvas de proteção. Para a determinação da concentração de açúcares totais nas amostras de baba, houve necessidade de obter uma curva de calibração, utilizando um glicosídeo padrão conhecido. Foi utilizada a glucose como padrão para obter a curva de calibração, usada na quantificação de açúcares totais presentes na baba.

A descrição de como foram preparadas as soluções padrão usadas para obter a curva de calibração encontra-se no anexo M, encontrando-se, também, a representação da curva de calibração dos açúcares totais. Para a medição da concentração de açúcares totais na baba de caracol foi adicionado um volume de 0,5 mL de cada amostra de baba (EB) e (EBCF) a tubos de ensaio com o auxílio de uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*).

Adicionou-se 0,5 mL da solução de fenol a 5% (w/v) usando uma micropipeta de 1 mL (*Accupet Pro*), a cada tubo de ensaio. Adicionou-se, ainda, com uma micropipeta de 5 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*) o volume de 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado (>95%) a cada tubo de ensaio. As amostras foram realizadas em triplicado, agitando cada tubo de ensaio num *vortex* (*Nahita 681/5*), antes de cada leitura da densidade ótica, no espectrofotómetro. Depois de ser feito o zero, usando uma *cuvette* de vidro com o branco no espectrofotómetro (*Unicam Helios γ*), foram lidas as densidades óticas no visível a 490 nm, lavando a *cuvette* com água destilada, entre cada medição. Usando a curva de calibração obtida previamente, apresentada no anexo M, foi possível determinar o conteúdo de açúcares totais presente na baba.

2.5. Preparação dos Produtos de Cosmética

Antes de proceder à preparação dos produtos de cosmética, juntaram-se as amostras de baba de caracol obtida pelo processo de extração por sucção, com adição de água destilada durante o processo de extração e posteriormente centrifugada e filtrada, com a designação (EBCF2) a (EBCF15), incluindo as amostras usadas na determinação da massa volúmica e na viscosidade.

Para a preparação dos produtos de cosmética foi necessária a preparação prévia de um excipiente para que os produtos formassem uma mistura homogênea com a adição da baba de caracol (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). A preparação do excipiente apresenta-se no anexo 0.

Tendo conhecimento prévio que a quantidade total necessária para os três produtos de cosmética que se pretendiam preparar seria de 550 g (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), foram preparados 600 g de excipiente, admitindo que existiriam perdas durante o processo. Foram preparados três produtos cosméticos diferentes, usando o mesmo excipiente como base: creme nutritivo de mãos; líquido hidratante para limpeza da pele normal ou oleosa e creme antirrugas. Os produtos depois de preparados foram armazenados em três recipientes de plástico, que foram devidamente rotulados e guardados no frio a uma temperatura de -3°C. Os valores utilizados na preparação dos produtos de cosmética são descritos em anexo (ver anexos Q, 0 e 0).

2.5.1. Preparação do creme nutritivo de mãos

Num gobelé de 250 mL pesou-se a massa de baba das amostras (EBCF2) a (EBCF15) numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*). Transferiu-se o volume de glicerina com uma pipeta graduada de 5 mL \pm 0,05 mL para gobelé contendo a baba. Numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*), pesou-se, a massa de lanolina no gobelé de 250 mL contendo a baba e a glicerina, pois a lanolina era um fluido muito espesso e viscoso. A massa de excipiente foi adicionada ao gobelé de 250 mL, contendo os restantes reagentes já mencionados. Obteve-se uma massa total de creme nutritivo de mãos de 113,5299 g.

2.5.2. Preparação do líquido hidratante

Num vidro de relógio pesou-se a massa de alúmen de potássio numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*) e transferiu-se para um gobelé de 1 L. Com uma pipeta graduada de 10 mL \pm 0,05 mL e uma pipeta volumétrica de 25 mL \pm 0,038 mL adicionou-se o volume de baba de caracol, dos conjuntos de amostra de (EBCF2) a (EBCF15). Adicionou-se o volume de água de rosas com uma pipeta volumétrica de 10 mL \pm 0,02 mL, ao gobelé de 1 L contendo o alúmen e a baba de caracol. Numa balança analítica (*Mettler Toledo PB 3002*) foi adicionada a massa de excipiente. Obteve-se uma massa total de líquido hidratante de 242,1207 g.

2.5.3. Preparação do creme antirrugas

Num vidro de relógio pesou-se a massa de alúmen de potássio numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*) e transferiu-se a massa pesada para um gobelé de 1 L. Como a literatura aconselhava a uma adição de excipiente e alúmen antes da adição dos outros reagentes (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), foi adicionada a massa de excipiente no gobelé 1 L, medido numa balança analítica (*Mettler Toledo PB 3002*). Pipetou-se o volume de baba com uma pipeta graduada de 10 mL \pm 0,05 mL para o gobelé de 1 L. Com uma espátula adicionou-se a massa de lanolina ao gobelé de 1 L numa balança analítica (*Mettler Toledo PB 3002*). Obteve-se uma massa total de 266,5838 g de creme antirrugas.

3. ANÁLISE E DISCUSSÃO DE RESULTADOS

Finalizada a descrição dos procedimentos experimentais e com vista a alcançar os objetivos propostos, neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos, assim como o seu tratamento e discussão. Sempre que se justificou, foi realizada uma análise estatística dos resultados obtidos, recorrendo ao *software* STATISTICA.

3.1. Otimização do Fornecimento de Alimentação à Base de Ração

Com o objetivo de determinar a quantidade ótima de alimentação para os caracóis manterem o seu peso ótimo no início de cada extração, foi efetuado um estudo que visava a otimização da alimentação para os caracóis adultos. Na Tabela 3.1 apresentam-se os valores das massas de ração usadas na alimentação dos espécimes do *Kit 2*, para as primeiras onze semanas do estudo de otimização do fornecimento de alimentação. Na mesma tabela estão indicadas, também, a massa de ração fornecida por número de espécimes e por massa de caracol adulto, bem como, uma avaliação qualitativa, por um processo visual e subjetivo, para traduzir a adequabilidade da quantidade de alimentação administrada. As três classes usadas nessa avaliação corresponderam a “alimentação excessiva”, “resquícios de alimentação no dia seguinte” e “défice de alimentação”, sinalizadas, respetivamente, a cor amarela, verde e vermelha.

Tabela 3.1 – Valores de massa de alimentação, à base de ração, por número de caracol e por massa de caracol, para as primeiras onze semanas do estudo de otimização do fornecimento de alimentação.

Data	Ração <i>Kit 2</i> (g)	Nº de espécimes	Massa de Ração/ Nº de espécimes (g)	Soma das massas dos espécimes no <i>Kit 2</i> (g)	Massa Ração/ Massa de espécimes
06/11/2014	6,0020	6	1,00	135,8036	$4,42 \times 10^{-2}$
07/11/2014	6,0011	6	1,00	-	-
08/11/2014	6,0011	6	1,00	-	-
09/11/2014	6,0011	6	1,00	-	-
10/11/2014	5,5018	6	0,92	-	-
11/11/2014	5,5032	6	0,92	-	-
12/11/2014	5,5017	6	0,92	-	-
13/11/2014	5,5040	6	0,92	141,5447	$3,89 \times 10^{-2}$
14/11/2014	5,5051	6	0,92	-	-
15/11/2014	5,5051	6	0,92	-	-
16/11/2014	5,5051	6	0,92	-	-
17/11/2014	4,0080	6	0,67	-	-
18/11/2014	4,0022	6	0,67	-	-
19/11/2014	4,0156	6	0,67	-	-
20/11/2014	4,0147	6	0,67	155,2537	$2,59 \times 10^{-2}$
21/11/2014	4,0007	6	0,67	-	-
22/11/2014	4,0007	6	0,67	-	-
23/11/2014	4,0007	6	0,67	-	-
24/11/2014	4,5125	6	0,75	-	-
25/11/2014	4,5007	6	0,75	-	-
26/11/2014	4,5055	6	0,75	-	-
27/11/2014	4,5158	6	0,75	154,18939	$2,93 \times 10^{-2}$
28/11/2014	4,5023	6	0,75	-	-
29/11/2014	4,5023	6	0,75	-	-
30/11/2014	4,5023	6	0,75	-	-

Tabela 3.1 – Valores de massa de alimentação, à base de ração, por número de caracol e por massa de caracol, para as primeiras onze semanas do estudo de otimização do fornecimento de alimentação (continuação).

Data	Ração Kit 2 (g)	Nº de espécimes	Massa de Ração/ Nº de espécimes (g)	Soma das massas dos espécimes no Kit 2 (g)	Massa Ração/ Massa de espécimes
01/12/2014	4,0007	6	0,67	-	-
02/12/2014	4,0000	6	0,67	-	-
03/12/2014	4,0137	6	0,67	-	-
04/12/2014	3,9965	6	0,67	151,8232	$2,63 \times 10^{-2}$
05/12/2014	4,0019	6	0,67	-	-
06/12/2014	4,0019	6	0,67	-	-
07/12/2014	4,0019	6	0,67	-	-
08/12/2014	4,0019	6	0,67	-	-
09/12/2014	4,5012	6	0,75	-	-
10/12/2014	4,5119	6	0,75	-	-
11/12/2014	4,5074	6	0,75	147,2019	$3,06 \times 10^{-2}$
12/12/2014	4,4976	6	0,75	-	-
13/12/2014	4,4976	6	0,75	-	-
14/12/2014	4,4976	6	0,75	-	-
15/12/2014	4,4981	6	0,75	-	-
16/12/2014	4,5097	6	0,75	-	-
17/12/2014	4,4958	6	0,75	-	-
18/12/2014	4,5089	6	0,75	147,5035	$3,06 \times 10^{-2}$
19/12/2014	4,5001	6	0,75	-	-
20/12/2014	4,5001	6	0,75	-	-
21/12/2014	4,5001	6	0,75	-	-
22/12/2014	4,4862	6	0,75	-	-
23/12/2014	4,5000	6	0,75	-	-
24/12/2014	4,5000	6	0,75	-	-
25/12/2014	3,8000	5	0,76	139,5000	$2,72 \times 10^{-2}$
26/12/2014	3,8000	5	0,76	-	-
27/12/2014	3,8000	5	0,76	-	-
28/12/2014	3,8000	5	0,76	-	-
29/12/2014	3,8000	5	0,76	-	-
30/12/2014	3,8000	5	0,76	-	-
31/12/2014	3,8000	5	0,76	-	-
01/01/2015	3,0000	4	0,75	-	-
02/01/2015	3,0000	4	0,75	-	-
03/01/2015	3,0000	4	0,75	-	-
04/01/2015	3,0000	4	0,75	113,6000	$2,64 \times 10^{-2}$
05/01/2015	3,0014	4	0,75	-	-
06/01/2015	2,9992	4	0,75	-	-
07/01/2015	2,9991	4	0,75	-	-
08/01/2015	3,0030	4	0,75	113,8528	$2,64 \times 10^{-2}$
09/01/2015	3,0000	4	0,75	-	-
10/01/2015	3,0000	4	0,75	-	-
11/01/2015	3,0000	4	0,75	-	-
12/01/2015	3,0019	4	0,75	-	-
13/01/2015	3,0052	4	0,75	-	-
14/01/2015	3,0014	4	0,75	-	-
15/01/2015	3,0183	4	0,75	114,0857	$2,65 \times 10^{-2}$
16/01/2015	2,9969	4	0,75	-	-

Os valores idênticos de massa de alimentação à base de ração, na Tabela 3.1, são referentes a feriados nacionais ou a fins-de-semana, apresentados nesta disposição para uma melhor análise.

É de realçar que este estudo de otimização teve como base a alimentação administrada e não a alimentação efetivamente consumida pelos caracóis, visto que no dia seguinte o suporte para a alimentação, incluía não só fezes dos espécimes, como baba, o que impossibilitava a sua quantificação. É, ainda, de realçar que se tratam de seres vivos multicelulares com diferenciação no seu apetite, no seu metabolismo e nas suas interações biológicas, sem que, contudo, a otimização da alimentação realizada tenha tido em consideração esses parâmetros.

A média da massa de alimentação administrada, à base de ração, por massa de caracol foi de $2,81 \times 10^{-2}$ (w/w) \pm $1,96 \times 10^{-3}$ (w/w), muito inferior ao valor de 1,5 (w/w), obtido da literatura (Haddad, 2004). Os valores utilizados para o cálculo da média foram apenas os valores apresentados a cor esverdeada na Tabela 3.1, que correspondiam a existirem apenas vestígios de ração, no dia seguinte à administração de alimentação. A discordância entre o valor obtido neste estudo e o valor bibliográfico poderá resultar do facto de este último ter sido obtido a nível industrial, onde não foi contabilizado o desperdício de ração na lavagem dos suportes onde é distribuída a alimentação. Assim, pode concluir-se deste estudo que a otimização das condições de alimentação dos caracóis poderá traduzir-se em poupanças relevantes no consumo de ração de uma exploração de helicicultura, sendo que os valores de consumo à escala industrial deverão tender para consumos específicos da ordem dos obtidos em laboratório.

3.2. Otimização do Processo de Extração de Baba de Caracol

Nesta secção apresentam-se os resultados obtidos para a determinação dos tempos ótimos para os diferentes processos de extração de baba de caracol, realizados durante o estudo laboratorial.

3.2.1. Extração de Baba de Caracol com auxílio de uma Vareta de Vidro

Nesta secção são apresentados os resultados que permitiram a determinação do tempo ótimo de extração de baba de caracol, através de estímulo a oito espécimes do *Kit 4'*, com uma vareta de vidro e a quantidade de baba produzida por este processo de extração de baba. O exemplo de cálculo para a determinação de massa perdida pelo espécime, a cada minuto de extração, a cada espécime estudado, foi realizado conforme apresentado na equação (1).

$$m_{\text{perdida pelo espécime},(n+1)} = m_{\text{espécime},(n+1)} - m_{\text{espécime},(n)} \quad (1)$$

Onde $m_{\text{perdida pelo espécime},(n+1)}$ apresenta a massa perdida pelo espécime para cada minuto de extração, $m_{\text{espécime},(n+1)}$ é a massa do espécime referente ao minuto $n + 1$ de extração de baba de caracol e $m_{\text{espécime},(n)}$ apresenta a massa do espécime ao minuto n de extração de baba. A massa acumulada de baba de caracol produzida a cada minuto de extração a cada espécime foi determinada em conformidade com a equação (2).

$$m_{\text{acumulada de baba},(n+1)} = (m_{\text{gobelé},(n+1)} - m_{\text{gobelé},(n)}) + (m_{\text{vareta},(n+1)} - m_{\text{vareta},(n)}) \quad (2)$$

Em que $m_{\text{acumulada de baba},(n+1)}$ é a massa acumulada de baba de caracol produzida a cada minuto de extração de baba de caracol, $m_{\text{gobelé},(n+1)}$ é a massa do gobelé de recolha da baba de caracol, contendo a baba de caracol recolhida ao minuto $n + 1$ de extração a cada espécime.

Ainda na equação (2), a simbologia $m_{gobelé,(n)}$ descreve a massa do gobelé de recolha de baba, com a baba de caracol recolhida ao minuto n de extração, $m_{vareta,(n+1)}$ é a massa da vareta de vidro utilizada, com a baba de caracol aprisionada ao minuto $n + 1$ de extração e $m_{vareta,(n)}$ é a massa da vareta de vidro, com a baba de caracol aprisionada ao minuto n de extração. Os valores médios da massa acumulada de baba de caracol produzida e de perda de massa de oito espécimes, a cada minuto, com os respetivos desvios padrão, apresentam-se na Tabela 3.2.

Tabela 3.2 – Média e desvio padrão da massa acumulada de baba produzida e da perda de massa de oito espécimes para diversos tempos de extração de baba de caracol por estímulo com uma vareta de vidro.

Tempo (min.)	Massa acumulada de baba produzida (g)		Perda de massa de cada espécime (g)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
1	0,2060	0,3275	0,2947	0,3639
2	0,8400	0,9139	0,9692	0,9539
3	1,2667	1,3244	1,4341	1,3725
4	1,6908	1,6896	1,8912	1,7508
5	1,9153	1,8843	2,1609	1,9357
6	2,1104	1,9347	2,3895	1,9843
7	2,2619	1,9452	2,5500	2,0145
8	2,4269	1,9545	2,7848	2,0037
9	2,5947	1,9421	2,9935	1,9941
10	2,8493	1,9014	3,2904	1,9561
11	3,0938	1,8749	3,5873	1,9258
12	3,2682	1,8547	3,8112	1,9139
13	3,4814	1,8665	4,0626	1,9311
14	3,6292	1,9022	4,2495	1,9712
15	3,8713	1,8551	4,5315	1,9319
16	4,0212	1,8758	4,7193	1,9473
17	4,1291	1,8797	4,8653	1,9513
18	4,2190	1,8843	4,9944	1,9597
19	4,3161	1,8917	5,1296	1,9696
20	4,3892	1,8744	5,3020	1,9122

Os valores obtidos para a perda de massa de cada espécime, massa parcial e acumulada da baba obtida, a cada minuto de extração, com auxílio de uma vareta de vidro, encontram-se descritos em anexo (ver anexo F). Verifica-se na Tabela 3.2, que a massa perdida por espécime é, em média, relativamente superior à média de massa de baba produzida por cada espécime, a cada minuto de extração. Essa diferença poderá ser explicada pela atividade metabólica do espécime, nomeadamente pela perda de água por transpiração. O facto de esta diferença aumentar ao longo do período em que se realiza a experiência poderá estar relacionada com o incremento do desgaste metabólico por o espécime se encontrar sobre *stress* (Bishop e Brand, 2000).

É de salientar que os valores usados na determinação do desvio padrão foram obtidos de extrações realizadas a oito espécimes diferentes e, por consequência, apresentam maior valor de desvio em relação à média, do que se fossem dados obtidos por extração ao mesmo espécime.

A amostragem estudada também deveria ter sido alargada para diminuição dos valores de desvio padrão apresentados. Não foram realizados testes consecutivos ao mesmo espécime, pois a recuperação de massa corporal é morosa, alongando o tempo de estudo laboratorial.

Na Figura 3.1 apresentam-se os valores médios de perda de massa de cada espécime e os valores médios da massa acumulada de baba de caracol produzida, em função do tempo de extração, a cada minuto, para otimização do tempo de extração de baba de caracol por estímulo a cada espécime, com auxílio de uma vareta de vidro, valores já apresentados na Tabela 3.2.

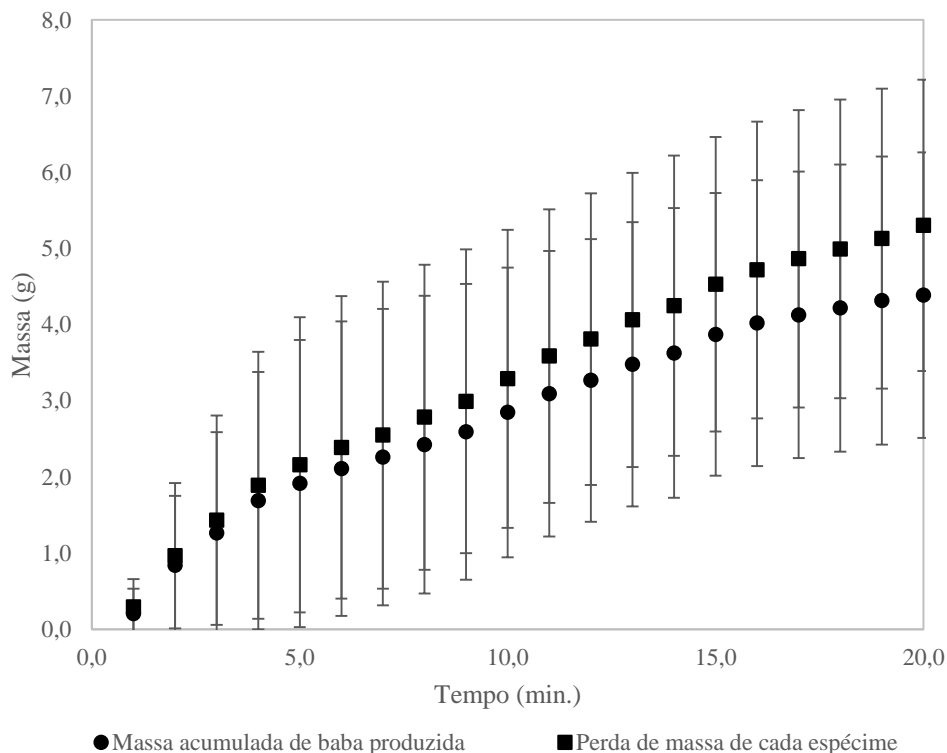


Figura 3.1 – Diagrama de valores da massa acumulada de baba produzida e valores da perda de massa de cada espécime, em função do tempo de extração, para o processo de extração de baba de caracol, com auxílio de uma vareta de vidro (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes).

Por questões de ética, a extração não foi levada até à exaustão dos espécimes. No entanto, analisando os gráficos que relacionam para cada experiência a perda de massa corporal e a massa de baba produzida (ver anexo F), é possível verificar que para minutos iniciais existe pouca diferença entre a massa de baba produzida e a perda de massa do caracol. Verifica-se, ainda, que tanto a função de massa de baba produzida em função do tempo de extração, como a função de perda de massa do caracol em função do tempo de extração, apresentam um maior incremento para os valores iniciais, tendendo para a linearidade, para tempos superiores.

Assim, é possível concluir que quanto maior for o tempo a que os espécimes sejam submetidos ao processo de extração por estímulo ao nível do pé do caracol com auxílio de uma vareta de vidro, tanto a massa de baba produzida, como a perda de massa do caracol, apresentam um crescimento até um determinado tempo de extração e, a partir desse tempo, tendem para um declive constante. Para comparação com valores bibliográficos, houve necessidade de admitir um tempo ótimo de extração. Foi, assim, admitido o primeiro tempo onde ocorre a linearização de cada função de massa acumulada de baba produzida em função do tempo de extração, nos diferentes diagramas da Figura F.1, apresentados em anexo (ver anexo F).

Esses tempos obtidos apresentam-se na Tabela 3.3, com exceção do tempo para o ensaio (OV5), visto não ter sido possível a sua determinação, tal como explicado em anexo (ver anexo F).

Tabela 3.3 – Valores do tempo ótimo obtido para cada ensaio realizado com extração de baba através de uma vareta de vidro.

Ensaio	Tempo ótimo (min.)
OV1	7,0
OV2	9,0
OV3	17,0
OV4	8,0
OV5	-
OV6	15,0
OV7	6,0
OV8	16,0

Esses dados foram, ainda, ajustados pela diferença entre os valores das perdas de massa de caracol e os valores das massas de baba produzida, apresentados na Tabela F.5 (ver anexo F).

Realizando a média aritmética dos tempos considerados nos oito ensaios, obteve-se o tempo ótimo médio para o processo de extração de baba de caracol, com estímulo ao nível do pé do caracol, com auxílio de uma vareta de vidro, de 11 minutos e 9 segundos.

Quantidade de Baba Produzida

Após concretização do processo de extração de baba de caracol através do estímulo ao nível do pé de cada espécime com auxílio de uma vareta de vidro, a dezanove espécimes diferentes, foi realizado o tratamento desses resultados para determinação da quantidade, em média, de baba produzida por esse processo de extração. A Tabela 3.4 apresenta os valores determinados de massa perdida pelo espécime e os valores de massa acumulada de baba produzida a 19 ensaios, realizados durante dez minutos cada, pelo processo de extração de baba, através de estímulo com auxílio de uma vareta de vidro. Os dados complementares apresentam-se no anexo H. Na mesma tabela apresentam-se, também, os valores da média, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação para as respectivas massas baba produzida e perda de massa do caracol.

Verifica-se que a média da massa perdida pelo espécime é superior à média da massa de baba, tal como já verificado pelo processo de otimização do tempo de extração por fricção do caracol. Obteve-se um valor mínimo de produção de baba de caracol por fricção de cada espécime com uma vareta de vidro de 0,1059 g e um valor máximo de 8,2656 g, verificando-se uma grande variação na quantidade de baba produzida, por cada caracol estudado. No entanto, os valores de desvio padrão e de coeficiente de variação, que define a razão entre o desvio padrão e a média, são superiores ao esperado, demonstrando uma dispersão elevada, em relação à média.

Como já referido no capítulo anterior, apesar de terem sido realizadas otimizações ao tempo de extração de baba de caracol, foi estipulado um tempo de extração de 10 minutos para todos os ensaios, de todos os processos de extração estudados, de forma a não acrescentar uma nova variável ao estudo e para facilitar, não só a comparação da quantidade de baba produzida entre cada processo de extração estudado, como a comparação com dados bibliográficos.

Determinando a razão entre as massas de baba produzida por massa de caracol, para cada espécime, utilizando os valores da massa acumulada de baba produzida da Tabela 3.4 e os valores de massa de cada espécime antes de cada processo de extração de baba realizado, foi possível determinar a média e o desvio padrão das 19 razões mássicas obtidas, para comparação com os valores bibliográficos (Gabriel *et al.*, 2011). Obteve-se, assim, uma razão mássica média de massa de baba produzida por massa de caracol de $7,864 \times 10^{-2} \text{ (w/w)} \pm 9,018 \times 10^{-2} \text{ (w/w)}$.

Tabela 3.4 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida bem como média, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos pela extração com auxílio de uma vareta de vidro, durante 10 minutos.

Ensaio	Massa perdida pelo espécime durante a extração (g)	Massa acumulada de baba produzida (g)
EV1	4,7947	4,8511
EV2	1,0025	0,9204
EV3	6,2102	6,1609
EV4	8,2900	8,2656
EV5	1,9559	1,8488
EV6	0,3034	0,1909
EV7	0,3704	0,2787
EV8	0,9544	0,8436
EV9	0,4686	0,2635
EV10	0,6496	0,3449
EV11	1,0010	0,4229
EV12	4,7650	4,4025
EV13	2,6713	2,3113
EV14	2,1019	0,9319
EV15	2,7746	1,0863
EV16	2,9024	2,6419
EV17	1,4583	1,3889
EV18	1,0559	0,2064
EV19	0,7779	0,1059
Média	2,3425	1,9719
Mínimo	0,3034	0,1059
Máximo	8,2900	8,2656
Desvio Padrão	2,2093	2,3229
Coeficiente de variação (%)	94,31	117,80

A razão mássica média obtida, apresenta um valor inferior ao apresentado pela literatura (Gabriel *et al.*, 2011), de razão entre as massas de baba e massa de caracol de 0,150 (w/w), valor determinado para 200 g de caracóis *Helix aspersa máxima*, com uma produção total de baba no valor de 30 g, com baba de caracol obtida pelo mesmo processo de extração.

3.2.2. Extração de Baba de Caracol por Centrifugação

Nesta secção é apresentada a determinação do tempo ótimo para realização do processo de extração de baba através da centrifugação a oito espécimes, bem como os resultados da quantidade de baba produzida por este processo. Na Tabela 3.5 são apresentados os valores médios de massa acumulada de baba de caracol produzida e de perda de massa de cada um dos espécimes estudados, a cada minuto de extração de baba para otimização do tempo de extração por centrifugação e os respetivos desvios padrão.

Verifica-se na Tabela 3.5, e analogamente à secção anterior, que a massa perdida por espécime é, em média, superior à massa de baba produzida por cada espécime, a cada minuto de extração, o que pode mais facilmente ser observado no gráfico seguinte em que são apresentados os valores em função do tempo de extração (média e desvio padrão) da perda de massa de cada espécime em função da massa de baba de caracol produzida, para cada minuto de extração,

Tabela 3.5 – Média e desvios padrão da massa de baba de caracol produzida e perda de massa de cada espécime, a cada minuto, para otimização do tempo de extração de baba de caracol, por centrifugação.

Tempo (min.)	Massa acumulada baba produzida (g)		Perda de massa de cada espécime (g)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
1	0,8645	0,6021	1,1640	0,6717
2	1,4975	0,9589	1,7867	0,9878
3	1,8186	0,9144	2,1836	1,0853
4	2,1368	1,0389	2,3960	1,2784
5	2,3822	1,0812	2,8525	1,1986
6	2,6118	1,2397	3,1592	1,3653
7	2,7054	1,2199	3,2846	1,3125
8	2,8506	1,2026	3,4740	1,3261
9	2,9293	1,1780	3,6079	1,3256
10	2,9889	1,2128	3,7374	1,3880
11	3,0356	1,2080	3,8444	1,4101
12	3,2447	1,3137	4,1961	1,4121
13	3,4035	1,3035	4,3166	1,5130
14	3,4802	1,3487	4,2853	1,3936
15	3,5292	1,3000	4,3887	1,3638
16	3,5525	1,2877	4,4662	1,3535
17	3,6055	1,2247	4,5697	1,3226
18	3,6190	1,2185	4,5957	1,3351
19	3,6329	1,2069	4,6347	1,3866
20	3,6962	1,1572	4,6726	1,3042

Na Figura 3.2 são apresentados os valores médios de perda de massa de cada espécime em função dos valores médios da massa acumulada de baba de caracol produzida, a cada minuto de extração de baba de caracol por centrifugação de cada espécime estudado.

Uma vez mais é possível verificar que para minutos iniciais existe pouca diferença entre a massa de baba produzida e a perda de massa do caracol, indiciando que a perda de massa do espécime é ligeiramente superior à massa da baba extraída, o que poderá ser explicado pela atividade metabólica do espécime, nomeadamente pela perda de água, que vai aumentando ao longo da experiência por o espécime se encontrar sobre *stress* acrescido (Bishop e Brand, 2000).

De realçar que nesta experiência a diferença entre as duas grandezas é mais acentuada do que na anterior, o que poderá ser explicado pelo indução acrescida de *stress* no processo de centrifugação. Apesar de ser visível nos gráficos apresentados em anexo (ver anexo F), uma linearidade nos valores de massa de baba produzida, após um determinado tempo de extração, não é possível verificar o mesmo na Figura 3.2, verificando apenas uma diminuição no incremento dos valores, ao longo do tempo. Apenas é possível constatar que, pelo processo de extração de baba por centrifugação, o caracol produz menos de baba ao longo do tempo.

Contrariamente ao que acontecia na experiência anterior, a análise dos diagramas apresentados no anexo F, demonstram que as massas parciais de baba de caracol seguem uma função oscilatória, algo não verificado no método anterior de extração de baba de caracol.

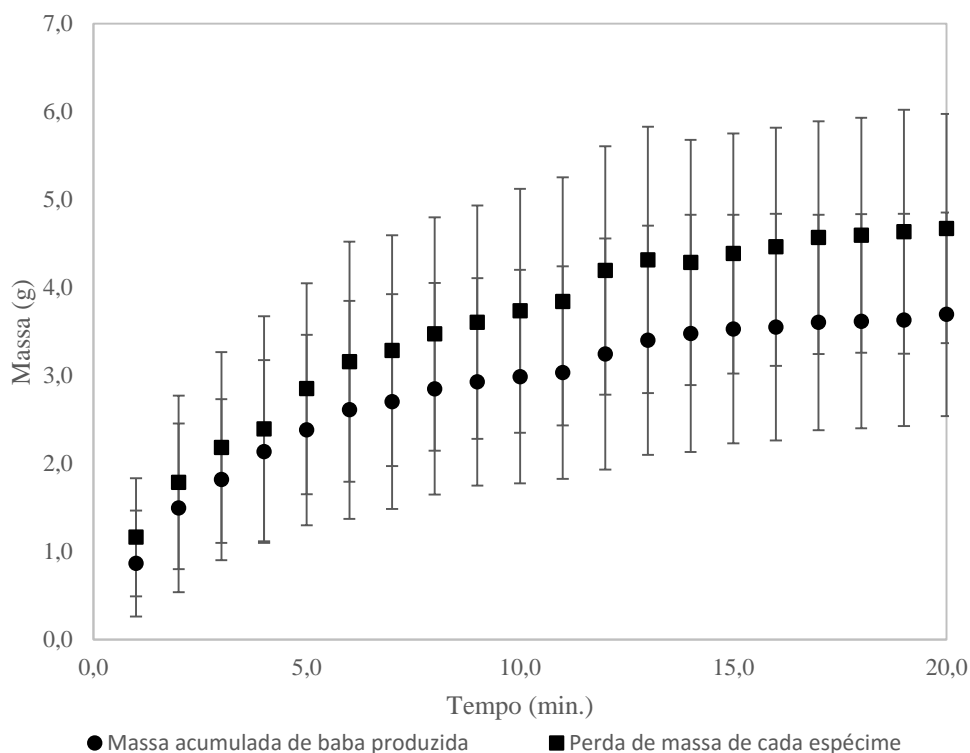


Figura 3.2 – Diagrama da massa perdida por cada espécime e massa acumulada de baba de caracol produzida em função do tempo de extração, para otimização do tempo de extração de baba por centrifugação (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes).

Houve novamente a necessidade de admitir um tempo de extração, para comparação com dados bibliográficos. Seguindo a mesma metodologia aplicada na secção anterior, foi considerado o primeiro tempo onde ocorre a linearização das funções de massa de baba produzida, apresentadas nos diagramas em anexo (ver anexo F), como o tempo ótimo para extração. A Tabela 3.6 descreve os valores desses tempos considerados, para cada ensaio realizado.

Tabela 3.6 – Valores do tempo ótimo obtido para cada ensaio realizado com extração de baba, por centrifugação.

Ensaio	Tempo ótimo de extração (min.)
OC1	14,0
OC2	16,0
OC3	15,0
OC4	4,0
OC5	17,0
OC6	7,0
OC7	9,0
OC8	14,0

Apenas foram estimados os tempos efetivos de extração de baba, não considerando os tempos adicionais de paragem do tambor da centrífuga, visto serem inferiores a 1 minuto, apesar da bibliografia revelar que incitam a produção de baba de caracol (Abad1996; Wang *et al.*,2010).

Os valores dos tempos ótimos obtidos foram ajustados pela diferença entre os valores das perdas de massa de caracol e os valores das massas de baba produzida, para cada ensaio realizado, apresentados na Figura F.2 (ver anexo F). Tal como no processo de extração anterior, foi admitido um tempo ótimo, determinado pela média aritmética dos tempos obtidos através dos diferentes diagramas em anexo. Obteve-se, assim, através dos valores descritos na Tabela 3.6, um tempo ótimo médio para extração de baba por centrifugação, de 12 minutos, tempo um pouco superior ao apresentado na bibliografia, de 10 minutos (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Após finalização da otimização do tempo de extração de baba por centrifugação de cada espécime foi verificado que todos os caracóis estudados apresentaram problemas ao nível do manto. Pela Figura 3.3 é possível averiguar tal facto onde o manto se desprende da concha provocando assim o falecimento do espécime, visto que o manto é o órgão que permite o controlo da respiração do espécime. Esta verificação enuncia que o processo de extração utilizado poderá não ser o mais adequado para a obtenção de baba de caracol.

No entanto, como o tempo de extração a que cada espécime esteve sujeito durante a otimização foi muito superior ao tempo estipulado da bibliografia (Abad 1996; Wang *et al.*, 2010) devido aos tempos adicionais de paragem da centrífuga, pode ter provocado um *stress* superior à exaustão a que cada caracol estudado aguentaria, provocando, assim, a morte do espécime.

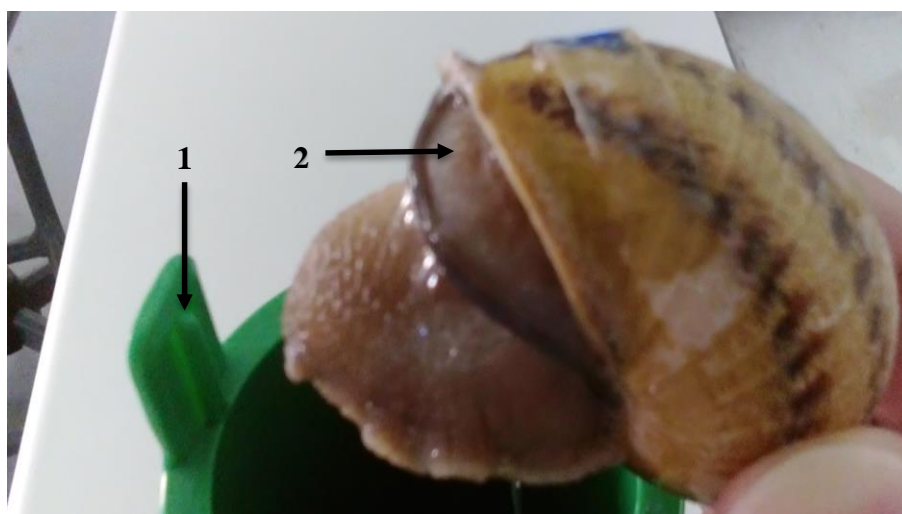


Figura 3.3 – Ilustração do problema da desunião do manto à concha provocada pelo processo de extração por centrifugação. 1= suporte para centrífuga; 2= manto do espécime solto.

No dia seguinte à realização deste método de otimização do tempo de extração por centrifugação, verificou-se que todos os caracóis adultos submetidos ao estudo faleceram.

Quantidade de Baba Produzida por Centrifugação

Apesar da otimização do tempo de extração de baba por centrifugação ter revelado que os espécimes apresentavam uma má formação ao nível do manto, provocada pelo processo de extração realizado, foi efetuada uma determinação da quantidade de baba produzida a oito novos espécimes para despiste desse problema estar apenas associado aos espécimes anteriormente estudados ou ao longo tempo de extração a que foram sujeitos.

Assim, após concretização do processo de extração de baba de caracol através de centrifugação de cada espécime, em oito ensaios, foi realizado o tratamento desses resultados para determinação da quantidade de baba de caracol produzida. A Tabela 3.7 apresenta as massas acumuladas de perda corporal e as massas de baba produzida em oito ensaios realizados durante 10 minutos, por centrifugação. O tempo de paragem do tambor da centrífuga foi de 46 segundos para os quatro primeiros ensaios realizados e de 51 segundos para os restantes ensaios. Os valores de massa perdida pelo espécime e de massa acumulada de baba produzida pelo processo de extração por centrifugação apresentam-se na Tabela 3.7, bem como as respetivas médias, máximos, mínimos, desvios padrão e coeficientes de variação. As determinações da massa perdida pelo espécime e da massa acumulada de baba produzida foram realizadas de acordo com as equações (1) e (2), respetivamente, já apresentadas na secção anterior.

Tabela 3.7 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida, bem como média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos por extração de baba por centrifugação, durante 10 minutos.

Ensaio	Massa perdida pelo espécime durante a extração (g)	Massa acumulada de baba produzida (g)
EC1	0,4547	0,3982
EC2	1,6500	1,5003
EC3	1,5384	1,4430
EC4	0,6902	0,6332
EC5	1,1877	0,6638
EC6	0,7425	0,1020
EC7	0,9533	0,9433
EC8	2,0693	1,6456
Média	1,1608	0,9162
Mínimo	0,4547	0,1020
Máximo	2,0693	1,6456
Desvio Padrão	0,5537	0,5640
Coeficiente de variação (%)	47,70	61,56

Obteve-se um valor mínimo de produção de baba por centrifugação de 0,1020 g e um valor máximo de 1,6456 g, sendo uma gama mais estreita que a obtida na experiência de fricção com auxílio de uma vareta de vidro, apesar de o número de espécimes estudados ser bastante inferior.

Obteve-se uma razão mássica média, de massa de baba de caracol produzida por massa de caracol, de $3,855 \times 10^{-2}$ (w/w) \pm $2,338 \times 10^{-2}$ (w/w), valor inferior ao apresentado pela literatura (Abad, 1996), que apresenta uma razão mássica de 0,40 (w/w), determinado para 2 kg de caracóis, com uma produção total de baba extraída de 800 g, pelo mesmo processo.

Após nova extração realizada pelo processo de extração por centrifugação dos espécimes verificou-se, novamente, a separação do manto, tal como exemplificado na Figura 3.3. De referir que estes resultados atestam o observado por Abad (1996), no qual muitos dos espécimes que utilizou também não sobreviveram durante a extração realizada. Fica, assim, comprovado que o processo de centrifugação não se adapta a uma extração eficaz, mesmo quando seguindo o processo de extração sugerido por Abad (1996) e Wang *et al.* (2010), nem ao nível de quantidade de baba obtida, nem ao nível do bem-estar do caracol submetido ao processo de extração de baba, tendo-se optado por não submeter mais espécimes a esta metodologia.

3.2.3. Extração de Baba de Caracol por Sucção do Espécime

Nesta secção é apresentada a determinação do tempo ótimo na realização do processo de extração de baba de caracol através de sucção a cada espécime e o cálculo da quantidade de baba produzida pelo mesmo processo de extração. Na Tabela 3.8 apresentam-se os valores calculados para a média de massa acumulada de baba de caracol produzida e para a média de perda de massa de cada espécime a cada minuto de otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção a oito espécimes estudados em laboratório e os respetivos desvios padrão.

Tabela 3.8 – Média e desvios padrão da massa acumulada de baba produzida e de perda de massa de cada espécime, a cada minuto de extração, para otimização do tempo de extração de baba de caracol, por sucção ao nível do pé de oito espécimes.

Tempo (min.)	Massa de baba produzida (g)		Perda de massa de cada espécime (g)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
1	0,9004	0,7918	1,0917	0,8603
2	2,2063	1,3814	2,6087	1,5145
3	3,4959	1,5273	4,0726	1,6815
4	4,7040	1,6363	5,4685	1,7840
5	5,4553	1,6145	6,3725	1,7234
6	5,8628	1,6061	6,8999	1,6793
7	6,2288	1,6173	7,3569	1,6653
8	6,3912	1,5610	7,6249	1,5960
9	6,5728	1,5215	7,8978	1,5512
10	6,7460	1,4327	8,1161	1,4426
11	6,8152	1,3895	8,2809	1,4000
12	6,9070	1,3548	8,4391	1,3559
13	6,9762	1,3334	8,5592	1,3097
14	7,0289	1,3110	8,6629	1,2869
15	7,0656	1,3076	8,7685	1,2885
16	7,1073	1,3007	8,8685	1,2772
17	7,1504	1,3042	8,9708	1,2401
18	7,1812	1,3189	9,0510	1,2278
19	7,1998	1,3109	9,1380	1,2142
20	7,2111	1,3130	9,2080	1,2161

Os valores obtidos para a perda de massa de cada espécime, massa parcial e massa acumulada da baba, obtida a cada minuto de extração por sucção realizada a cada espécime, encontram-se apresentados no anexo H. De acordo com os métodos utilizados anteriormente, verifica-se na Tabela 3.8, que a massa perdida por espécime, é em média relativamente superior à média das massas de baba produzidas por cada espécime, a cada minuto de extração. Este facto pode estar associado a um maior desgaste metabólico de cada espécime estudado, por se encontrar sobre *stress* durante os processos de extração, tal como mencionado no método de extração anterior.

Na Figura 3.4 são apresentados os valores da média de perda de massa de cada espécime estudado e a média da massa acumulada de baba de caracol produzida em função do tempo de extração, a cada minuto de extração de baba de caracol, por sucção realizada a cada espécime.

Pela análise da Figura 3.4, constata-se que ambas as funções apresentam uma diminuição no incremento dos valores obtidos, ao longo do tempo de extração, revelam uma fase de crescimento para tempos iniciais e um declive constante para tempos finais de extração de baba.

É possível constatar, que apesar de existir uma maior linearidade para esses valores finais de extração de baba, a diferença entre a massa perdida por espécime e a massa acumulada de baba produzida é, também, superior às mesmas diferenças entre as duas massas, comparando com os processos de extração de baba de caracol, apresentados nas duas secções anteriores.

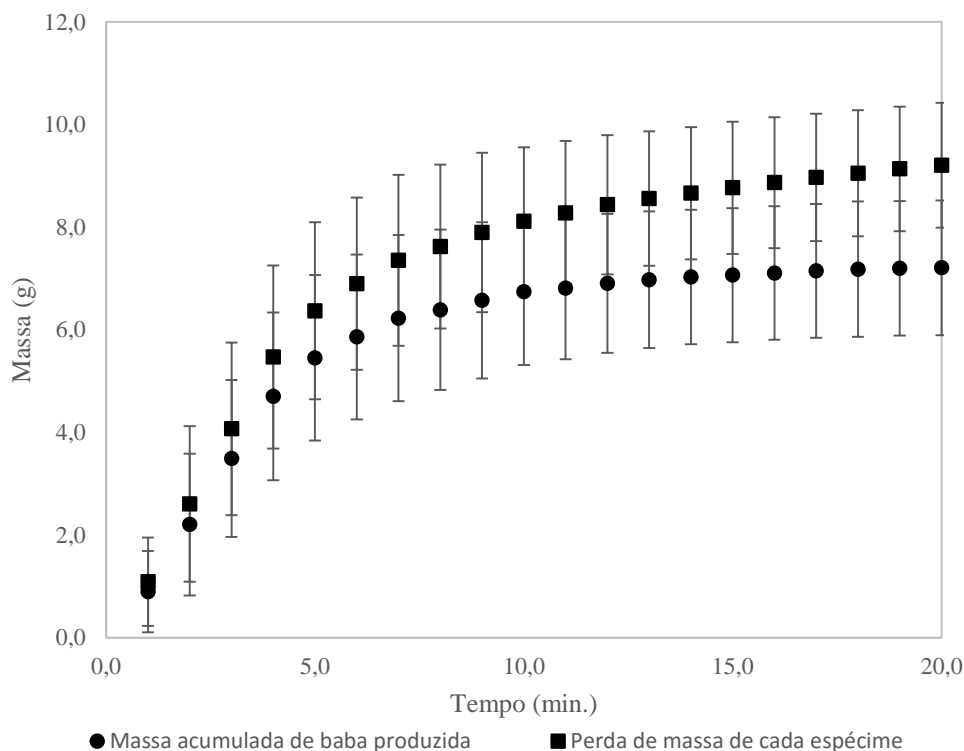


Figura 3.4 – Diagrama de valores da massa perdida por espécime e da massa acumulada de baba produzida, em função do tempo de extração, a cada minuto, para otimização do tempo de extração por sucção (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes).

É de salientar que a quantidade baba de caracol produzida por esta metodologia foi superior aos dois métodos anteriores. Analisando os diagramas apresentados em anexo (ver anexo F) e, admitido o primeiro tempo onde se inicia a linearização dos valores finais, para a função de massa acumulada de baba produzida por tempo de extração, como o tempo ótimo de extração, obtiveram-se os valores apresentados na Tabela 3.9. O tempo ótimo médio, obtido para uma extração de baba por sucção, através dos valores apresentados na Tabela 3.9, foi de 8 minutos

Tabela 3.9 – Valores do tempo ótimo para cada ensaio realizado com extração de baba, por sucção.

Ensaio	Tempo ótimo (min.)
OA1	12,0
OA2	7,0
OA3	8,0
OA4	7,0
OA5	9,0
OA6	6,0
OA7	8,0
OA8	7,0

Este tempo é inferior aos tempos obtidos para os anteriores processos de extração de baba.

Apesar de o método utilizado não ser idêntico, o tempo obtido é, também, inferior ao utilizado numa extração de baba por centrifugação na bibliografia (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), de 10 minutos. De salientar que o processo de extração de baba de caracol utilizado é um método inovador e, por isso, não existem, até ao momento, dados bibliográficos para comparação direta.

Quantidade de Baba Produzida por Sucção

A Tabela 3.10 apresenta os valores de massa perdida pelo espécime e de massa acumulada de baba produzida, durante 10 minutos, pelo processo de extração por sucção e os respetivos valores de média, máximo, mínimo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos.

Tabela 3.10 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida, bem como média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos pela extração de baba por sucção, durante 10 minutos a cada espécime.

Ensaio	Massa perdida pelo espécime durante a extração (g)	Massa de baba produzida (g)
EA1	1,2221	0,2958
EA2	1,8425	0,5187
EA3	2,8721	0,3496
EA4	0,6521	0,2438
EA5	3,4422	2,2374
EA6	5,5208	3,8527
EA7	1,6542	0,8954
EA8	7,7520	7,2248
EA9	1,9564	1,4949
EA10	4,2488	3,6458
EA11	2,0225	1,5356
EA12	5,2922	4,7870
EA13	2,6181	1,7541
EA14	2,4535	2,0325
EA15	4,0510	3,2527
EA16	2,1461	1,5519
EA17	3,0217	2,2415
EA18	0,6543	0,2446
EA19	0,9689	0,4776
EA20	2,0479	1,5631
EA21	1,1240	0,6108
EA22	5,6063	4,2787
EA23	2,8285	1,8845
EA24	0,4667	0,4583
EA25	4,2309	3,3803
EA26	6,6666	5,8771
EA27	5,1852	4,6159
EA28	1,2493	0,7411
EA29	3,2973	2,6263
EA30	5,6011	4,6335
Média	3,0898	2,3102
Mínimo	0,4667	0,2438
Máximo	7,7520	7,2248
Desvio Padrão	1,9371	1,8631
Coeficiente de variação (%)	62,69	80,65

Estes dados foram obtidos após concretizado o processo de extração de baba de caracol por sucção ao nível do pé, a 30 espécimes diferentes, para determinação da quantidade de baba.

Obteve-se um valor mínimo de produção de baba de caracol por sucção, ao nível do pé, de cada espécime estudado de 0,2438 g e um valor máximo de 7,2248 g, uma variedade de valores muito idêntica à apresentada pelo processo de extração de baba, por fricção do caracol através de uma vareta de vidro. No entanto, o coeficiente de variação, apesar de apresentar um menor valor que no processo de extração com auxílio de uma vareta de vidro, revela que existe uma dispersão entre os valores obtidos nos 30 ensaios realizados. A média da massa acumulada de baba produzida é superior à mesma média apresentada pelos processos de extração anteriores, podendo ser expresso que o processo de extração idealizado, produz quantidades de baba superiores às metodologias mais utilizadas, para extração de baba. No entanto, essa constatação só pode ser confirmada entre os processos de extração de baba de caracol estudados.

A razão mássica entre a massa de baba produzida por massa de caracol, utilizando os valores da massa acumulada de baba produzida da Tabela 3.10 e as massas de cada espécime estudado, foi de $9,664 \times 10^{-2} \text{ (w/w)} \pm 7,218 \times 10^{-2} \text{ (w/w)}$. Tal como já referido, a metodologia utilizada é um processo de extração de baba inovador, não existindo dados bibliográficos para comparação direta. Apesar de apresentar uma razão mássica superior aos outros processos de extração estudados, verifica-se que o valor de razão mássica de massa de baba de caracol produzida por massa de caracol estudado é inferior aos dados apresentados pela literatura consultada (Abad, 1996; Gabriel *et al.*, 2011), que apresentam valores muito superiores.

Abad (1996) apresenta uma razão mássica de 0,400 (w/w), calculado para 2 kg de caracóis, com uma produção por centrifugação, para 800 g de baba de caracol produzida (Abad, 1996) e os dados apresentados por Gabriel e coautores (2011), apresentam um valor de 0,150 (w/w), valor determinado para 200 g de caracóis *Helix aspersa máxima*, com uma produção por fricção com uma vareta de vidro, com um total de baba no valor de 30 g (Gabriel *et al.*, 2011).

3.2.4. Extração de Baba de Caracol por Sucção com Administração de Água Destilada, durante o Processo de Extração

Nesta secção é apresentada a determinação do tempo ótimo para realização do processo de extração de baba de caracol através de sucção a cada espécime com adição de água destilada durante o processo de extração e a quantidade de baba produzida para o mesmo processo.

Na Tabela 3.11 encontram-se descritos os valores médios de massa acumulada de baba de caracol produzida e de perda de massa de cada espécime, com os respetivos desvios, a cada minuto de extração, para otimização do tempo de extração de baba por sucção ao nível do pé, com adição de água destilada durante o processo de extração, a oito espécimes diferentes.

Os valores obtidos para a perda de massa de cada espécime, massa parcial de baba produzida e massa acumulada da baba produzida, a cada minuto de extração por sucção ao nível do pé, com administração de água destilada, de cada espécime estudado, encontram-se descritos em anexo (ver anexo G). Verifica-se na Tabela 3.11, que a média da massa acumulada de baba produzida por cada espécime é relativamente superior aos valores médios de massa perdida por espécime, a cada minuto de extração, o que não ocorreu nos métodos apresentados anteriormente.

Este facto está associado à administração de água destilada ao espécime, permitindo uma estabilização da massa de cada espécime, por hidratação durante o processo de extração, tal como é referido na bibliografia (Colognesi *et al.*, 2013), apesar de serem metodologias distintas.

Tabela 3.11 – Médias e desvios padrão da massa acumulada de baba produzida e de perda de massa de cada espécime, a cada minuto de extração de baba de caracol, por sucção, com adição de água destilada a cada espécime estudado, durante o processo.

Tempo (min.)	Massa de baba produzida (g)		Perda de massa de cada espécime (g)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
1	0,8787	0,4055	0,6423	0,4458
2	1,7151	0,5968	1,2847	0,6718
3	2,5946	0,7959	1,9855	0,7121
4	3,0132	0,9376	2,3030	0,8876
5	3,2421	0,9865	2,4802	0,9718
6	3,5132	1,1553	2,7074	1,2156
7	3,6629	1,1745	2,7892	1,2458
8	3,8325	1,1774	2,9248	1,4086
9	3,9554	1,1684	2,8812	1,2813
10	4,0883	1,2236	2,9323	1,3428
11	4,2298	1,2421	2,9460	1,3637
12	4,4147	1,1977	3,1065	1,3488
13	4,5410	1,2255	3,1130	1,4060
14	4,6477	1,2112	3,1435	1,3986
15	4,7509	1,2215	3,1447	1,3768
16	4,8417	1,1999	3,1425	1,3865
17	4,9297	1,2223	3,1451	1,3684
18	5,0578	1,2319	3,2288	1,3386
19	5,1761	1,2345	3,2269	1,3239
20	5,3969	1,3400	3,2379	1,3368

De salientar que os valores usados para determinação das médias de massa acumulada de baba produzida apenas englobam a baba produzida pelo caracol, sem contabilização da água administrada durante o processo de extração. O processo de secagem foi realizado não só para determinação da percentagem de água destilada absorvida pelo caracol durante o processo de extração, como para determinação dos valores apresentados na Tabela 3.11.

Na Figura 3.5 são apresentados os valores da média de perda de massa de cada espécime estudado e a média da massa acumulada de baba de caracol produzida, em função do tempo de extração, para cada minuto de otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção, com adição de água destilada. Apesar de ao longo do tempo a massa de baba produzida apresentar valores superiores à massa perdida pelo espécime, verifica-se novamente que existe uma diminuição no incremento dos valores, para ambas as funções apresentadas.

Verifica-se que, e neste caso em particular, as diferenças entre a massa acumulada de baba de caracol produzida e as perdas de massa de caracol aumentam com o aumento do tempo a que o caracol é sujeito ao processo de extração. Uma das observações preponderantes a retirar da análise à Figura 3.5, é que, com o aumento da média da massa acumulada de baba produzida, a média dos valores de perda de massa de cada espécime estudado tende não só para um declive constante, como para um valor constante, próximo de 3 g, para valores médios de massa.

Apesar de a Figura 3.5 remeter para uma extração de baba sem perdas aparentes de massa do caracol, anulada pela administração de água destilada, todos os espécimes apresentaram uma tortuosidade no rebordo do pé no final da extração, não verificada nos métodos anteriores.

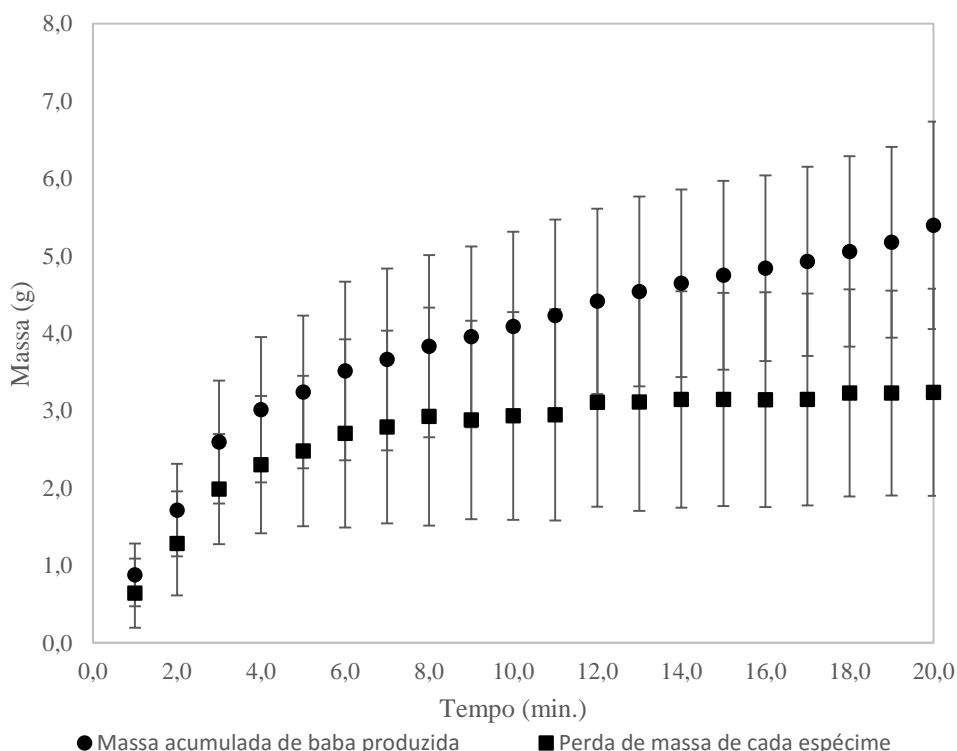


Figura 3.5 – Diagrama de valores médios de perda de massa de cada espécime estudado e massa acumulada de baba produzida, em função do tempo de extração, para cada minuto de extração de baba por sucção, com adição de água destilada, durante o processo de extração (para cada minuto encontra-se representada a média e o desvio padrão dos oito ensaios realizados, a oito espécimes diferentes).

A determinação do tempo ótimo de extração foi realizada pelos diagramas apresentados no anexo G, pela metodologia descrita atrás, obtendo os valores apresentados na Tabela 3.12.

Tabela 3.12 – Tempo ótimo de extração de baba por sucção com adição de água destilada, a cada ensaio realizado.

Ensaio	Tempo ótimo (min.)
OAH1	12,0
OAH2	10,0
OAH3	6,0
OAH4	9,0
OAH5	7,0
OAH6	9,0
OAH7	8,0
OAH8	12,0

Esses dados, não só foram ajustados pela diferença entre a massa de baba produzida e a massa perdida pelo caracol, apresentados na Tabela G.6 (ver anexo G) como pelo tempo do aparecimento de tortuosidades no rebordo do pé, apresentadas em todos os ensaios realizados neste processo de extração. Obteve-se, assim, um tempo ótimo médio para extração de baba por sucção, com adição de água destilada ao processo, de 9 minutos e 8 segundos.

Quantidade de Baba Produzida por Sucção, com Administração de Água Destilada

Finalizados os ensaios realizados durante o processo de extração de baba por sucção, com administração de água destilada durante o processo, foi realizada a determinação da quantidade, em média, de baba de caracol produzida por esse processo de extração. A Tabela 3.13 apresenta os dados de massa perdida por cada espécime e de massa acumulada de baba produzida, bem como as respectivas médias, máximos, mínimos, desvios padrão e coeficientes de variação dos dados obtidos, pelo processo de extração de baba de caracol por sucção e com administração de água destilada a cada espécime estudado, durante os 10 minutos de extração de baba.

Tabela 3.13 – Valores de massa perdida pelo espécime e massa de baba produzida, bem como média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados obtidos pela extração por sucção, com adição de água destilada, durante 10 minutos.

Ensaio	Massa perdida pelo espécime durante a extração (g)	Massa de baba produzida (g)
EAH1	3,0712	3,8469
EAH2	2,3498	3,2230
EAH3	2,8743	3,6637
EAH4	3,2470	3,9915
EAH5	3,0840	3,7717
EAH6	2,1697	2,9000
EAH7	1,6095	2,3110
EAH8	2,8022	3,6284
EAH9	3,2511	3,9427
EAH10	2,6859	3,3956
EAH11	1,1597	2,7070
EAH12	2,5628	4,1082
EAH13	2,4286	4,5125
EAH14	1,9331	2,8969
EAH15	2,6037	3,6335
EAH16	1,5344	2,4167
EAH17	1,5324	2,2975
EAH18	1,6571	2,5760
EAH19	3,0755	3,8543
EAH20	3,7930	4,6889
EAH21	1,5046	2,6539
Média	2,4252	3,3819
Mínimo	1,1597	2,2975
Máximo	3,7930	4,6889
Desvio Padrão	0,7271	0,7203
Coeficiente de variação (%)	29,98	21,30

Tal como seria de esperar, a massa perdida pelo espécime é inferior à massa acumulada de baba produzida, em média, pelo processo de extração citado. O valor mínimo de produção de baba de caracol obtido por este método foi de 2,2975 g e o valor máximo de 4,6889 g, uma gama de valores inferior à apresentada na secção anterior, mas com menores valores de coeficiente de variação e de desvio padrão e um valor médio superior, atestando a distribuição dos dados em torno da média. Pode, assim, ser admitido que a administração de água destilada ao processo aumenta a produção de baba de caracol nos três processos de extração estudados. Foi determinada a razão mássica entre a massa de baba produzida e a massa de caracol, utilizando os valores da Tabela 3.10 e os valores de massa de cada espécime, prévios à extração de baba.

De referir que a massa de baba produzida, durante 10 minutos de extração por sucção ao nível do pé, com adição de água destilada a cada espécime, foi determinada pela equação (3).

$$m_{total\ de\ baba} = (m_{conjunto\ c/\ baba} - m_{conjunto}) - ((1 - \% H_2O_{absorvida\ pelo\ caracol}) \times V_{H_2O\ administrada} \times \rho_{H_2O,(T)}) \quad (3)$$

Na equação (3), o símbolo $m_{total\ de\ baba}$ descreve a massa de baba produzida durante o tempo de extração, $m_{conjunto\ c/\ baba}$ é a massa do conjunto balão de Büchner, suporte do espécime e tubo de sucção, contendo a baba de caracol produzida, $m_{conjunto}$ refere a massa do conjunto balão de Büchner, suporte do espécime e tubo de sucção, utilizado no processo, $\% H_2O_{absorvida\ pelo\ caracol}$ é a percentagem de água destilada absorvida por cada espécime durante o processo de extração, obtida pelo processo de secagem, $V_{H_2O\ administrada}$ é o volume total de água destilada adicionado durante o processo de extração e $\rho_{H_2O,(T)}$ é a massa volúmica de água destilada, à temperatura ambiente de cada extração de baba de caracol realizada.

Obteve-se uma razão mássica de $0,1931\ (w/w) \pm 3,642 \times 10^{-2}\ (w/w)$. Esse valor é superior ao valor apresentado nos outros métodos de extração estudados e superior aos dados apresentados por Gabriel e co-autores (Gabriel *et al.*, 2011), de $0,150\ (w/w)$. No entanto, o valor da razão mássica obtido pelo processo de extração referido é inferior aos dados obtidos por Abad, de $0,400\ (w/w)$, mas onde ocorre o falecimento de alguns espécimes, após a extração (Abad, 1996).

3.2.5. Quantidade de Baba Produzida para Análises Físico/Químicas

Para análise das propriedades físico/químicas da baba de caracol, a 30 espécimes provenientes diretamente das estufas da empresa *MiranHélix, Lda*, foram realizadas novas extrações de baba de caracol. A baba foi obtida através do processo de extração com sucção ao nível do pé dos espécimes, reproduzida pelas amostras de baba denominadas por (EB) e por sucção e administração de água destilada a cada espécime, descrita pelas amostras de baba (EAHS).

A massa acumulada de baba produzida durante os dez minutos de extração a cada espécime foi determinada pela equação (3), descrita na secção anterior. Os valores da temperatura e humidade ambiente de cada extração, bem como os valores de massa perdida pelo espécime e massa acumulada de baba produzida encontram-se apresentados na Tabela J.1 (ver anexo J).

Foi, assim, determinada a quantidade de baba produzida, em cada processo de extração realizado, a gastrópodes terrestre provenientes diretamente da empresa mencionada, sem passarem previamente por um processo de adaptação ao *Kit*. Estas novas extrações foram ainda realizadas para determinar se diferentes processos de purga, prévias à extração (abstinência alimentar nos primeiros 15 espécimes e um purga durante 3 dias, interrompida antes do processo de secagem aos restantes 15 espécimes), teriam influência na quantidade de baba produzida ou, ainda, nas propriedades físico /químicas da mesma. Contudo constatou-se que esses processos de purga, realizados pela empresa *MiranHelix, Lda.*, não influenciam os valores de massa perdida pelo espécime ou de massa de baba produzida nos ensaios realizados.

Realizou-se um estudo das medidas de tendência central e das medidas de dispersão para todos os 30 ensaios de (EAHS1) a (EAHS30), referentes aos valores de massa acumulada de baba produzida e massa perdida pelo espécime. Esses valores encontram-se descritos na Tabela 3.14.

Tabela 3.14 - Valores das medidas de tendência central e medidas de dispersão para a obtenção de baba por sucção com administração de água destilada ao processo, obtida para realização de análises físico/químicas à baba extraída.

	Nº de ensaios	Média (g)	Mínimo (g)	Máximo (g)	Desvio Padrão	Coefficiente de variação (%)
Massa perdida pelo espécime para os ensaios (EAHS1) a (EAHS30)	30	3,0871	1,4524	4,9630	0,9441	30,58
Massa de baba produzida para os ensaios (EAHS1) a (EAHS30)	30	4,0426	2,4923	6,6519	0,9998	24,73

Verifica-se que o valor médio de massa perdida pelo espécime é inferior ao valor médio da massa acumulada de baba produzida nesta gama de ensaios, tal como verificado na gama de ensaios, apresentada na secção anterior e, tal como mencionado, esta diferença poderá estar associada à absorção de água destilada pelo caracol, na qual o caracol apresenta uma maior estabilização da sua massa corporal, tendo uma menor perda de massa durante o processo.

Comparativamente com os valores médios apresentados na secção anterior, verifica-se que existe uma maior quantidade de baba produzida pelos caracóis de natividade outono-inverno de 2014, nos valores médios apresentados nesta secção. Confirma-se também esse aumento de valores entre os valores de máximo e mínimo, apresentados na Tabela 3.13 e na Tabela 3.14.

Este facto pode indicar que produções de caracol nascidas na época outono-inverno produzam mais baba de caracol que produções nascidas na época de primavera-verão ou que extrações ocorridas em setembro produzam mais baba de caracol que extrações ocorridas a junho/julho. No entanto, não foram englobados no presente trabalho estes testes sazonais, pois seriam necessárias várias extrações, em anos diferentes, para consolidar tal conclusão. Os valores de desvio padrão demonstram que a dispersão em relação à média é considerável. O coeficiente de variação define, também, uma razão entre os valores de desvio padrão obtidos e as médias determinadas com valores significativos dispersão, nos dados obtidos no processo de extração.

É possível constatar, no entanto, que o valor máximo de massa de baba produzida, apresentado na Tabela 3.14, é inferior ao valor apresentado na extração de baba por sucção, da secção 3.2.3. Contudo verifica-se que existe a média de massa de baba produzida é superior à média apresentada na secção 3.2.3, demonstrando que existe maior produção de baba de caracol, em média, com administração de água destilada ao processo de extração.

A razão mássica, de $0,2498 \text{ (w/w)} \pm 4,437 \times 10^{-2} \text{ (w/w)}$, foi obtida pelos valores da massa de baba de caracol produzida, apresentados na Tabela J.1 (ver anexo J) e os valores de massa de cada espécime antes de cada processo de extração de baba realizado, para a gama de valores dos ensaios (EAHS1) a (EAHS30). Este valor é superior a todas as razões mássicas dos processos de extração realizados anteriormente durante o estudo laboratorial. Novamente, como se trata de uma extração inovadora, não existem dados bibliográficos para comparação direta.

Além de apresentar uma razão mássica superior aos outros processos de extração estudados, apresenta, ainda, um valor de razão mássica superior aos dados apresentados por Gabriel, que exhibe um valor de razão mássica de 0,150 (w/w) (Gabriel *et al.*, 2011). No entanto, o valor da razão mássica obtida pelo processo de extração referido é inferior aos dados apresentados por Abad, que demonstram um valor de razão mássica de 0,400 (w/w) (Abad, 1996).

Tal como referido anteriormente, esta secção contempla também a análise de dados alusivos ao processo de extração de baba de caracol por sucção a cada espécime com o intuito de realização de análises físico/químicas à baba extraída. Este processo foi realizado de modo a comparar as análises entre baba extraída com e sem administração de água destilada durante o processo de extração a espécimes provenientes diretamente da empresa *MiranHélix, Lda.*. Na Tabela 3.15 encontram-se descritos os valores da média, mínimo, máximo, desvio padrão e coeficiente de variação para os dados apresentados na Tabela J.2 (ver anexo J).

Tal como para os ensaios (EAHS), constatou-se que a utilização de dois processos de purga diferentes, anteriores à extração de baba, não influenciam os valores de baba produzida. Assim, foram considerados os valores para o conjunto de ensaios (EB1) a (EB30), apresentando os valores das medidas de tendência central e medidas de dispersão na Tabela 3.15.

Tabela 3.15 - Valores das medidas de tendência central e valores de medidas de dispersão para a obtenção de baba de caracol pelo processo de extração de sucção a cada espécime, durante dez minutos, com o intuito de análises físico/químicas à baba.

	Nº de ensaios	Média (g)	Mínimo (g)	Máximo (g)	Desvio Padrão	Coeficiente de variação (%)
Massa de baba produzida para os ensaios (EB1) a (EB30)	30	1,7109	0,7724	2,7576	0,4197	24,53

A média da massa acumulada de baba produzida encontra-se abaixo do valor descrito no processo de extração de baba por sucção, ao nível do pé dos espécimes, descrita na secção 3.2.3. O valor do desvio padrão, demonstra que os dados apresentam uma baixa dispersão em relação à média. O coeficiente de variação define, ainda, uma baixa dispersão em torno da média, atestando uma boa reprodutividade dos dados. De salientar novamente, que os valores foram obtidos de extrações realizadas a espécimes diferentes e, por consequente, descrevem um maior desvio em relação à média do que se fossem dados obtidos por extração ao mesmo espécime.

3.2.6. Análise Comparativa de Baba Produzida em cada Processo de Extração estudado

Nesta secção é realizada uma análise comparativa entre todos os processos de extração de baba de caracol, realizados durante o trabalho laboratorial, de forma a determinar o processo que apresenta maior vantagem na sua aplicação industrial, em função da baba produzida. Os valores médios da massa de baba produzida, da massa perdida pelo espécime, com os respetivos desvios padrão, mínimos, máximos e coeficientes de variação, em todos os processos de extração realizados apresentados na Tabela 3.16. Apresentam-se, ainda, na mesma tabela, as razões mássicas médias e respetivos desvios padrão, para os mesmos processos de extração de baba.

Verifica-se que o valor máximo de baba produzida ocorre para o processo de extração com estímulo de cada espécime com uma vareta de vidro, denominados por (EV). No entanto, o maior valor médio de baba produzida é referente ao processo de extração de baba de caracol por sucção a cada espécime estudado, com administração de água destilada durante o processo de extração (EAHS). Contudo, esses dados apresentam também um maior desvio padrão.

Tabela 3.16 – Valores da média da massa de baba produzida, massa perdida por cada espécime e razão mássica, com os respectivos desvios padrão, em todos os processos de extração de baba realizados ao longo do estudo laboratorial.

Ensaio	EV	EC	EA	EAH	EAHS	EB	
Nº de espécimes estudados	19	8	30	21	30	30	
Tempo ótimo (s)	669	720	480	548	N. V.	N. V.	
Massa de baba produzida (g)	Média (g)	1,9719	0,9162	2,3102	3,3819	4,0426	1,7109
	Desvio Padrão	2,3229	0,5640	1,8631	0,7203	0,9998	0,4197
	Mínimo (g)	0,1059	0,1020	0,2438	2,2975	2,4923	0,7724
	Máximo (g)	8,2656	1,6456	7,2248	4,6889	6,6519	2,7576
	Coefficiente de determinação (%)	117,8	61,56	80,65	21,3	24,73	
Massa perdida pelo espécime (g)	Média (g)	2,3425	1,1608	3,0898	2,4252	3,0871	N. V.
	Desvio Padrão	2,2093	0,5537	1,9371	0,7271	0,9441	N. V.
	Mínimo (g)	0,3034	0,4547	0,4667	1,1597	1,4524	N. V.
	Máximo (g)	8,2900	2,0693	7,752	3,793	4,963	N. V.
	Coefficiente de variação (%)	94,31	47,7	62,69	29,98	30,58	N. V.
Razão mássica (w/w)	Média (g)	0,0786	0,0386	0,0966	0,1931	0,2498	N. V.
	Desvio Padrão	0,0901	0,0234	0,0722	0,0364	0,0444	N. V.

É necessário referir que os ensaios (EAHS) apresentam, ainda, o maior valor médio de perda de massa de caracol durante a extração de baba, mas, também, o maior desvio padrão associado. Constata-se que em todos os ensaios realizados com administração de água destilada, durante o processo de extração, denominados por (EAH) e (EAHS), a média da massa perdida pelo espécime é inferior à média da massa acumulada de baba produzida, revelando que a adição de água destilada é um fator preponderante no processo de extração, minimizando a perda de massa corporal dos caracóis, em conformidade com a literatura (Colognesi *et al.*, 2013).

O maior valor de razão mássica de massa de baba produzida por perda de massa de caracol é dado para os ensaios (EAHS), referentes ao processo de extração de baba por sucção, com adição de água destilada, podendo ser considerado o método mais eficaz neste estudo e passível de implementação a nível industrial, em simultâneo com a helicicultura já implementada.

3.3. Análise Físico/Química da Baba de Caracol

Com vista a determinar as propriedades físico/químicas da baba de caracol, apresentam-se, nesta secção os resultados obtidos de pH, massa volúmica, viscosidade e concentrações de proteínas e de açúcares totais da baba de caracol extraída pelos diferentes processos de extração.

3.3.1. Determinação do pH

Tendo realizado as medições de pH aos ensaios do processo de extração de baba por sucção, com administração de água destilada (EAHS), aos ensaios do mesmo processo após purificação da baba por um processo de centrifugação e filtração (EBCF) e aos ensaios do processo de extração de baba por sucção (EB), procedeu-se à análise do pH da baba de caracol obtida.

O estudo dos valores de pH teve como intuito a determinação do nível de acidez da baba de caracol obtida de cada espécime com e sem adição de água destilada, mas também para a baba de caracol utilizada na produção dos produtos de cosmética, preparados posteriormente. Uma baba com uma acidez ou uma basicidade muito elevada poderia provocar problemas, não só no processo de extração, como na consistência do produto de cosmética, mas, principalmente, ao nível do efeito sobre a região da pele onde fosse aplicado esse produto de cosmética.

Foram realizados testes de pH aos ensaios obtidos por um processo de extração por sucção dos espécimes, denominados por (EB), por se tratarem de baba obtida sem qualquer adição de água destilada e, assim, possibilitar a comparação com os dados bibliográficos (Castro *et al.* 2006).

Constatou-se que a utilização de dois processos de purga diferentes, anteriores à extração de baba, não influenciam os valores de pH obtidos, pelo que se apresentam os dados analisados em conjunto. Na Tabela 3.17 apresentam-se as medidas de tendência central e medidas de dispersão para os valores de pH obtidos de cada amostra (EAHS), (EBCF) e (EB), em triplicado.

Tabela 3.17 – Valores das medidas de tendência central e medidas de dispersão para a média aritmética dos valores de pH, obtidos em triplicado, para cada ensaio (EAHS), (EBCF) e (EB).

	Nº de ensaios	Média	Mínimo	Máximo	Desvio Padrão	Coefficiente de variação (%)
Valores de pH nas amostras de baba (EAHS1) a (EAHS30)	30	4,82	4,43	5,18	0,1781	3,70
Valores de pH nas amostras de baba (EBCF2) a (EBCF30)	29	4,57	4,18	4,92	0,2293	5,02
Valores de pH nas amostras de baba (EB1) a (EB30)	30	4,74	4,38	5,12	0,2374	5,01

Salienta-se que o ensaio (BCF1) não foi possível recuperar após o processo de filtração. Os valores de desvio padrão demonstram que a dispersão em relação à média é relativamente baixa. O coeficiente de variação define ainda uma homogeneidade dos dados obtidos em relação à média, podendo-se admitir que os dados apresentam uma boa reprodutividade, apesar de terem sido obtidos de extrações realizadas a espécimes diferentes. O valor de pH obtido nas amostras de baba denominadas por (EAHS) e (EB) encontra-se próximo do valor relatado na literatura (Castro *et al.*, 2006) que descreve um valor de pH de baba de caracol de 4,99. O valor de pH dos ensaios (EBCF) é ligeiramente inferior, apresentando uma baba com maior acidez.

Na Figura 3.6 são apresentados os diagramas de extremos e quartis, com a respetiva mediana, mínimo e máximo para a média aritmética de valores de pH, dos ensaios denominados por (EAHS), (EBCF) e (EB), obtidos em triplicado.

Pela análise da Figura 3.6, verifica-se que os valores de pH para os ensaios denominados por (EAHS), (EBCF) e (EB), apresentam uma assimetria positiva já que a mediana se encontra próxima do 1º quartil, apresentando valores medianos de pH da baba entre 4,5 a 4,9.

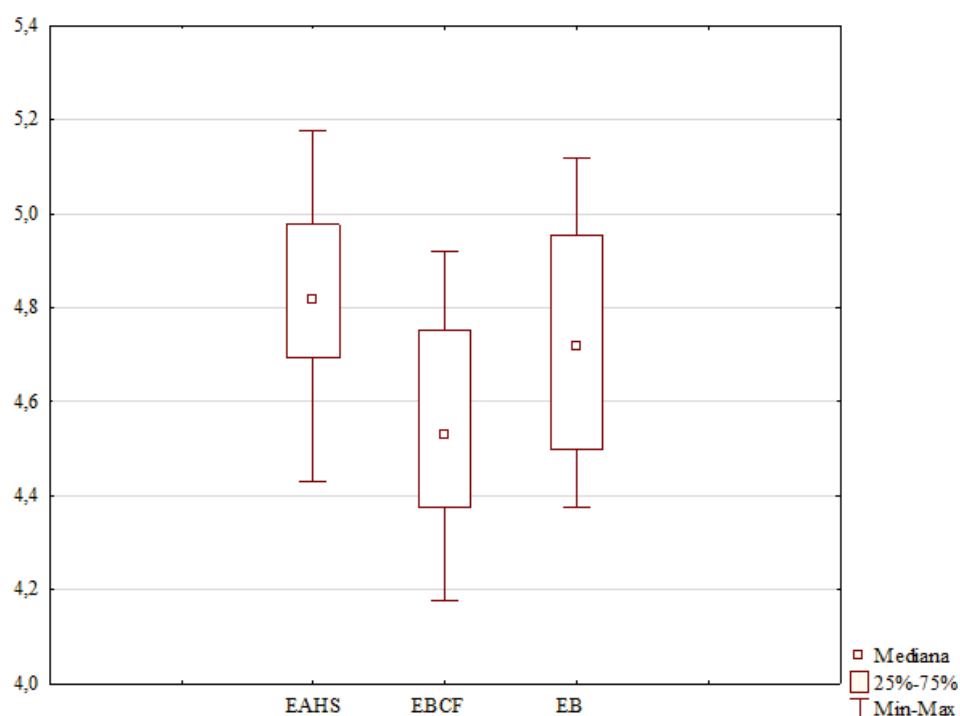


Figura 3.6 – Diagrama de extremos e quartis para a média de valores de pH, obtidos para cada ensaio (EAHS), (EBCF) e (EB).

Contudo, nos ensaios denominados por (EB), essa assimetria é muito menor que nos outros dois conjuntos de ensaios. Esta verificação demonstra que os dados apresentados não se encontram aproximados a uma curva de distribuição normal, podendo apresentar alguns desvios significativos. Denota-se, ainda, que além do valor da mediana se apresentar próximo do primeiro quartil para os três conjuntos de ensaios, existe uma maior distribuição de valores menos ácidos dentro da variabilidade de dados obtidos nos ensaios (EAHS) e (EBCF), já que o 3º quartil apresenta uma maior aproximação do valor máximo, que o 1º quartil do valor mínimo.

No caso dos ensaios denominados por (EB), existe uma distribuição de valores mais ácidos dentro da variabilidade de dados obtidos, pois o 3º quartil apresenta menor aproximação do valor máximo, que o 1º quartil do valor mínimo. É possível verificar, ainda, que existe um aumento dos níveis de acidez, nas amostras de baba de caracol centrifugadas e filtradas (EBCF), comparativamente com as mesmas amostras de baba, previamente a esses processos (EAHS). Como apenas é analisado o sobrenadante filtrado, o aumento dos valores de pH nas amostras purificadas pode resultar de um aumento da concentração de ácidos presentes no sobrenadante, como o ácido glicólico, com a deposição da matéria sólida no processo de centrifugação.

Todos os valores de pH obtidos apresentam assim um caráter ácido para a baba de caracol apresentando-se em conformidade com os valores verificados na literatura (Castro *et al.*, 2006).

3.3.2. Determinação da Massa Volúmica

Tendo obtido os dados mássicos através da técnica de picnometria para o conjunto de ensaios (EAHS), (EBCF) e (EB), foi determinada a massa volúmica para cada conjunto de ensaios. Estes dados foram estudados com o intuito de averiguação não só da massa volúmica das diferentes amostras de baba de caracol obtida, com e sem administração de água destilada, mas também para o conjunto de amostras de baba de caracol utilizada na produção dos produtos de cosmética, cuja preparação se encontra descrita posteriormente neste documento, na secção 3.4.

Também para esta propriedade física se constatou que a utilização de dois processos de purga diferentes, anteriores à extração de baba, não influenciam os valores da massa volúmica obtida. Assim, foram analisadas as gamas em conjunto e apresentados na Tabela 3.18.

Tabela 3.18 – Valores da média e desvio padrão de massa volúmica, a diferentes temperaturas, para três conjuntos de ensaios.

ρ médio (kg/m ³)	T (°C)				
	15,0	20,0	25,0	30,0	35,0
(EAHS1) a (EAHS30)	1001,1629	1000,6389	999,4228	998,0266	996,4927
Desvio Padrão	0,2542	0,4797	0,2680	0,1328	0,2099
(EBCF2) a (EBCF30)	999,6583	999,2649	997,7423	996,7461	995,2655
Desvio Padrão	0,2524	0,2696	0,4103	0,4134	0,4141
(EB1) a (EB30)	1046,6350	1046,3915	1045,2406	1043,9951	1042,5815
Desvio Padrão	0,7147	0,6498	0,6704	0,6445	0,5672

Através da Tabela 3.18, foi possível elaborar o gráfico de média dos valores de massa volúmica das amostras de baba de caracol (EAHS) em função da temperatura, apresentado na Figura 3.7.

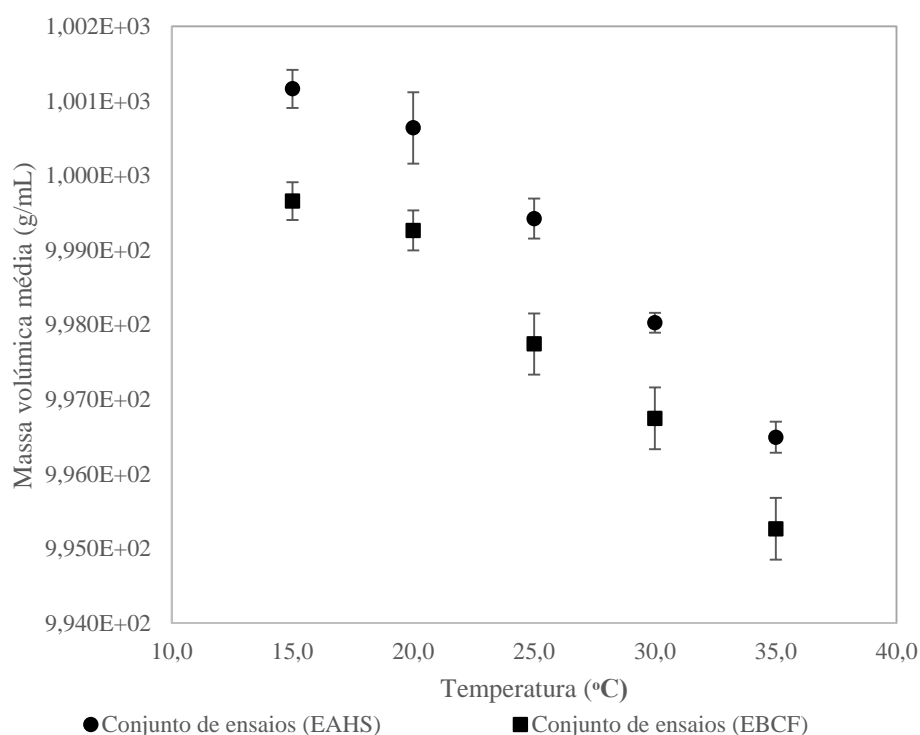


Figura 3.7 – Gráfico dos valores médios de massa volúmica em função da temperatura para os ensaios (EAHS) e (EBCF).

Verifica-se, na Figura 3.7, uma diminuição dos valores de massa volúmica de baba de caracol, com o aumento da temperatura, proveniente do conjunto de ensaios (EAHS) e (BCF).

Constatou-se, no entanto, que esta diminuição não apresenta uma variação gradual na diferença entre cada valor de média de massa volúmica com o aumento da temperatura. Verifica-se, ainda, que os valores de desvio padrão atestam a correlação entre as variáveis, obtendo uma boa reprodutividade do modelo apresentado para a massa volúmica, dos ensaios (EAHS) e (EBCF).

Na Figura 3.8 apresenta-se a relação entre a média aritmética dos valores da massa volúmica para o conjunto de ensaios denominados por (EB) em função da temperatura, utilizando os dados da Tabela 3.18. Tal como nos ensaios (EAHS) e (EBCF), verifica-se pela Figura 3.8, que existe uma diminuição da massa volúmica, em média, para o conjunto de amostras denominadas por (EB), com o aumento dos valores de temperatura. Constata-se, também, um aumento no incremento de cada valor de massa volúmica obtido, com o aumento da temperatura.

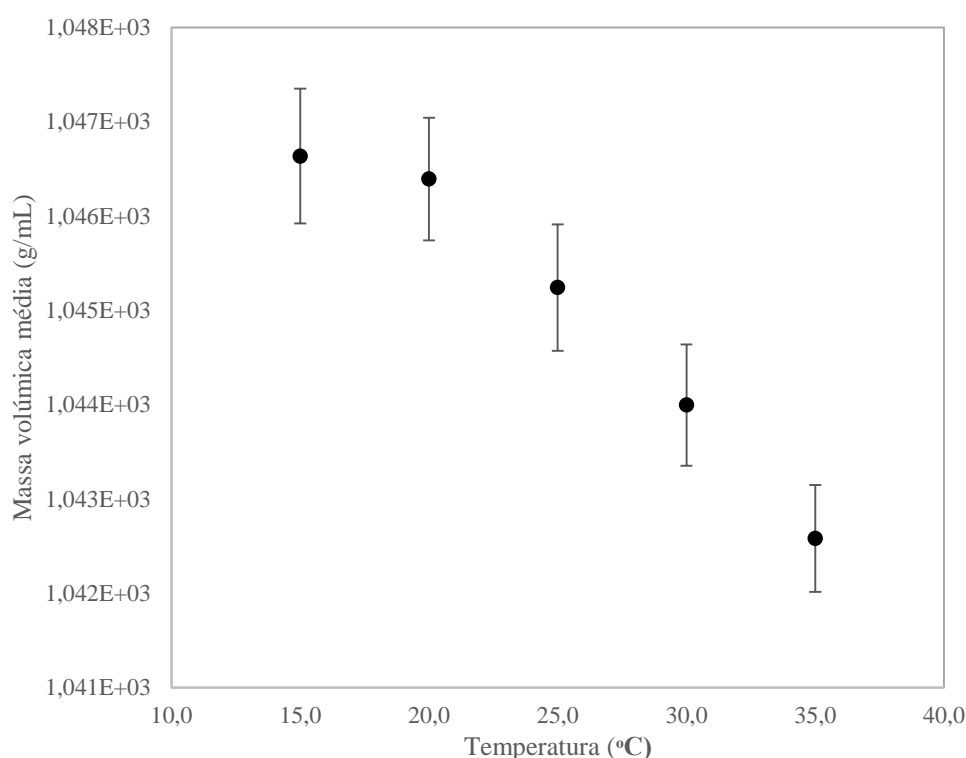


Figura 3.8 – Gráfico da média aritmética de massa volúmica para o conjunto de ensaios (EBCF) em função da temperatura.

Os valores de massa obtida pelo processo de sucção dos espécimes (EB) apresenta, contudo, valores superiores de desvio padrão em relação aos ensaios denominados por (EAHS) e (EBCF). Pela correlação da média dos valores de massa volúmica obtida em função da temperatura, constata-se que a massa volúmica de baba é sensivelmente de 1,05 g/mL para a temperatura de 25°C, obtida pelos ensaios (EB). Como é de esperar, esse valor diminui com a adição de água destilada no processo de extração de baba, tal como verificado nos valores apresentados para os ensaios (EAHS) e (EBCF), na Tabela 3.18. Extrapolando por excesso, pode-se enunciar que a relação entre a massa de baba de caracol e o seu volume não difere significativamente, para temperaturas próximas de 25°C. Assim, a administração de água destilada ao processo de extração, diminui a massa volúmica da baba e auxilia no escoamento da mesma, durante a extração de baba, como torna os produtos de cosmética menos densos.

3.3.3. Determinação da Viscosidade

A determinação da viscosidade da baba de caracol foi calculada de acordo com o procedimento descrito no capítulo 2.4.3, para o conjunto de amostras de baba obtidas por um processo de extração por sucção ao nível do pé, com administração de água a cada espécime, durante o processo de extração (EAHS) e as mesmas amostras de baba centrifugadas e filtradas (EBCF).

Como já referido, a baba de caracol é um fluido viscoelástico, ou seja, não newtoniano, não sendo o método utilizado o mais indicado para a medição da sua viscosidade. No entanto, como as amostras de baba de caracol testadas apresentavam uma diluição significativa, admitiu-se que o comportamento do fluido era próximo a um comportamento de um fluido newtoniano, medindo a viscosidade, de forma grosseira, em viscosímetros capilares. Na Tabela 3.19 apresentam-se os valores das médias e respetivos desvios padrão, da viscosidade dinâmica e cinemática, obtidos a diferentes temperaturas, para os conjuntos de ensaios (EBCF) e (EAHS).

Os valores apresentados foram determinados com o intuito de apurar se a viscosidade da baba de caracol, obtida com administração de água destilada durante o referente processo de extração, apresenta valores de viscosidade que restrinjam a força de atrito, durante o processo de extração e também para a averiguação da viscosidade da baba de caracol utilizada na produção dos produtos de cosmética, preparados posteriormente no estudo. Os valores obtidos para o tempo de escoamento da baba de caracol, apresentam-se em anexo (ver anexo O).

Analogamente à massa volúmica, constatou que a utilização de dois processos de purga diferentes, anteriores à extração de baba, não influenciam os valores da viscosidade obtida. Assim, foram analisadas as gamas em conjunto, não considerando esses processos de purga.

Tabela 3.19 – Valores da média de viscosidade, a diferentes temperaturas, para o conjunto de ensaios (EAHS) e (EBCF).

ν médio (Stokes)	T (°C)				
	15,0	20,0	25,0	30,0	35,0
(EAHS1) a (EAHS30)	$1,830 \times 10^{-2}$	$1,598 \times 10^{-2}$	$1,406 \times 10^{-2}$	$1,247 \times 10^{-2}$	$1,111E - 02$
Desvio Padrão	$7,723 \times 10^{-4}$	$6,321 \times 10^{-4}$	$5,700 \times 10^{-4}$	$4,162 \times 10^{-4}$	$4,033E - 04$
(EBCF2) a (EBCF30)	$1,389 \times 10^{-2}$	$1,225 \times 10^{-2}$	$1,090 \times 10^{-2}$	$9,655 \times 10^{-3}$	$8,715E - 03$
Desvio Padrão	$1,383 \times 10^{-4}$	$2,676 \times 10^{-4}$	$1,815 \times 10^{-4}$	$9,974 \times 10^{-5}$	$1,734E - 04$
μ médio (Poise)	T (°C)				
	15,0	20,0	25,0	30,0	35,0
(EAHS1) a (EAHS30)	$1,832 \times 10^{-2}$	$1,599 \times 10^{-2}$	$1,405 \times 10^{-2}$	$1,244 \times 10^{-2}$	$1,107 \times 10^{-2}$
Desvio Padrão	$7,732 \times 10^{-4}$	$6,321 \times 10^{-4}$	$5,691 \times 10^{-4}$	$4,146 \times 10^{-4}$	$4,015 \times 10^{-4}$
(EBCF2) a (EBCF30)	$1,388 \times 10^{-2}$	$1,224 \times 10^{-2}$	$1,088 \times 10^{-2}$	$9,624 \times 10^{-3}$	$8,674 \times 10^{-3}$
Desvio Padrão	$1,378 \times 10^{-4}$	$2,673 \times 10^{-4}$	$1,805 \times 10^{-4}$	$9,938 \times 10^{-5}$	$1,723 \times 10^{-4}$

Utilizando os dados da Tabela 3.19, foi possível representar o gráfico de média dos valores de viscosidade dinâmica de baba de caracol dos ensaios (EAHS) e (EBCF), em função da temperatura, apresentados no gráfico da Figura 3.9. Verifica-se no mesmo gráfico, que existe uma diminuição dos valores de viscosidade, em média, para o conjunto de ensaios (EAHS) e (EBCF), com o aumento dos valores de temperatura. Constatase, ainda, que a média dos dados de viscosidade entre os dois conjuntos de ensaios apresentam alguma diferença para cada temperatura estudada tanto nos valores da média, como nos valores dos desvios padrão obtidos.

A média de valores de viscosidade, para o conjunto de ensaios (EBCF), é inferior aos valores médios de viscosidade, para o conjunto de ensaios (EAHS). Na Figura 3.9, as equações obtidas pelas linhas de tendência, traçadas a todos os pontos de cada função, são descritas na equação (4), para o conjunto de ensaios (EAHS) e na equação (5), para o conjunto de ensaios (EBCF).

$$\bar{\mu}_{ensaios (EAHS)} = -4,0 \times 10^{-4} \times T + 2,34 \times 10^{-2} \quad (4)$$

$$\bar{\mu}_{ensaios (EBCF)} = -3,0 \times 10^{-4} \times T + 1,76 \times 10^{-2} \quad (5)$$

Onde $\bar{\mu}_{ensaios}$ descreve a média dos valores da viscosidade para os dois conjuntos de ensaios (EAHS) ou (EBCF) e T é a temperatura do banho termoestatizado utilizado. Os coeficientes de determinação obtidos foram de 0,9891 e 0,9905, atestando a correlação entre a variável de viscosidade dinâmica e a variável de temperatura, o que pode ser visionado na Figura 3.9.

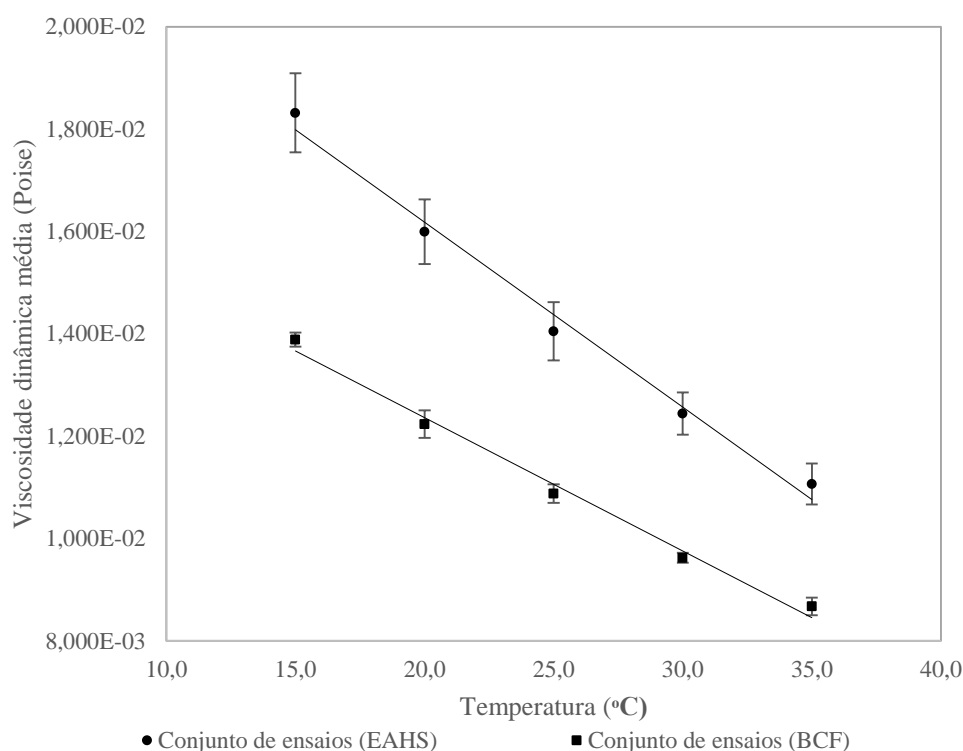


Figura 3.9 – Gráfico da média de viscosidade para o conjunto de ensaios (EAHS) e (EBCF), em função da temperatura.

Verifica-se que existe a diminuição da viscosidade das amostras obtidas antes e depois do processo de centrifugação e filtração, para extrações de baba de caracol por sucção de cada espécime, com adição de água destilada, podendo, assim, tornar os produtos de cosmética menos viscosos, diminuindo o volume de água destilada necessário, na sua preparação. Esta diminuição de viscosidade entre as amostras obtidas antes e depois de um processo de centrifugação e filtração pode estar associada com os referidos processos onde existe uma separação do sobrenadante e uma possível retenção de massa de baba no processo de filtração.

É possível definir, que a administração de água destilada durante o processo de extração apresenta a vantagem de tornar a baba extraída menos viscosa e mais fácil de tratar, tanto para o processo de extração, como para posterior adição na preparação dos produtos de cosmética.

3.3.4. Determinação da Concentração de Proteínas

Após a medição das densidades óticas a 595 nm, com utilização do método de Bradford (Bradford, 1976), para as amostras de baba provenientes de extrações realizadas por sucção a caracóis, denominadas por (EB), e de extrações de baba por sucção com adição de água destilada, após um processo de centrifugação e filtração, denominadas por (EBCF), foi determinada a concentração de proteínas presentes na baba de caracol, em cada ensaio realizado.

Na Tabela 3.20 apresentam-se a média dos valores das concentrações de proteínas na baba de caracol, para volumes de amostras de baba de 0,1 mL dos ensaios denominados por (EBCF), obtidas através das densidades óticas na Tabela L.1 (ver anexo L), obtidas em triplicado.

Tabela 3.20 – Valores das concentrações de proteínas presentes no volume de 0,1 mL na baba de caracol nos ensaios (EBCF).

Ensaio	C _{média proteínas} (mg/mL)
EBCF1	-
EBCF2	7,715
EBCF3	8,247
EBCF4	3,646
EBCF5	6,926
EBCF6	3,938
EBCF7	2,108
EBCF8	3,968
EBCF9	10,152
EBCF10	8,785
EBCF11	5,143
EBCF12	3,938
EBCF13	1,845
EBCF14	18,787
EBCF15	3,284
EBCF16	3,389
EBCF17	2,103
EBCF18	7,049
EBCF19	6,230
EBCF20	6,803
EBCF21	5,622
EBCF22	8,294
EBCF23	2,775
EBCF24	8,686
EBCF25	8,300
EBCF26	7,359
EBCF27	9,002
EBCF28	6,920
EBCF29	7,271
EBCF30	4,441
Média	6,301
Mínimo	1,845
Máximo	18,787
Desvio Padrão	3,387
Coefficiente de variação (%)	53,76

Tal como já foi referido, a amostra (EBCF1) não foi possível recuperar após o processo de filtração aplicado, por problemas relacionados com o sistema de filtração utilizado nesse ensaio.

Estes dados foram estudados com o intuito de verificação não só da concentração de proteínas na baba obtida sem adição de água destilada, bem como, para a baba utilizada na produção dos produtos de cosmética. Quanto maior a concentração de proteínas presentes na baba de caracol mais benéfico se torna o produto de cosmética preparado. Apesar de se encontrar descrito na bibliografia (Fountain e Campbell, 1984) a realização de testes de determinação da concentração proteínas para a baba de caracol através do método de Bradford (Bradford, 1976), não foram encontrados dados bibliográficos para possível comparação analítica.

Na Tabela 3.21 encontram-se descritas as médias dos valores das concentrações de proteínas na baba de caracol para volumes de amostra de 0,1 mL, de extrações realizadas por sucção aos caracóis, para análise das propriedades físico/químicas da baba, denominados por (EB), para os valores obtidos, das densidades óticas descritas na Tabela L.2 (ver anexo L).

Tabela 3.21 – Valores das concentrações de proteínas presentes no volume de 0,1 mL de baba de caracol, para os ensaios (EB).

Ensaio	C média proteínas (mg/mL)
EB1	16,814
EB2	21,252
EB3	10,710
EB4	18,533
EB5	24,041
EB6	21,813
EB7	Não foi possível pipetar
EB8	Não foi possível pipetar
EB9	20,953
EB10	22,427
EB11	29,039
EB12	24,918
EB13	22,795
EB14	26,373
EB15	21,339
EB16	Não foi possível pipetar
EB17	Não foi possível pipetar
EB18	24,970
EB19	24,953
EB20	22,058
EB21	13,218
EB22	26,356
EB23	18,252
EB24	27,619
EB25	19,042
EB26	24,286
EB27	22,935
EB28	Não foi possível pipetar
EB29	19,094
EB30	15,955
Média	21,590
Mínimo	10,710
Máximo	29,039
Desvio Padrão	4,404
Coefficiente de variação (%)	20,40

As observações das densidades óticas foram realizadas em triplicado, por espectrofotometria.

Para a análise apresentada, não foram ponderados os ensaios (EB7), (EB8), (EB16), (EB17) e (EB28), visto não ter sido possível pipetar as amostras de baba de caracol, por apresentar uma consistência muito viscosa, formando uma aderência significativa às respectivas pontas da micropipeta utilizada ou contendo por vezes bolhas de ar aprisionadas, de difícil remoção.

Deverá ser tida em conta que a determinação dos valores de desvio padrão foi realizado para as concentrações calculadas e não para as densidades óticas obtidas, aumentando assim os desvios associados. Os valores de desvio padrão apresentam uma dispersão elevada em relação à média.

Os coeficientes de variação definem, ainda, uma razão elevada dos desvios padrão pela média de valores obtidos. É necessário mencionar que as concentrações de baba dos ensaios (EBCF) foram medidas com a água destilada adicionada durante a extração, o que proporciona valores de concentrações proteicas muito inferiores à baba extraída apenas por sucção e sem adição de água destilada, como nos ensaios identificados por (EB). Contudo, a baba de caracol adicionada posteriormente aos produtos de cosmética, proveio dos ensaios (EBCF), por se tratarem de baba extraída pelo processo de extração mais vantajoso, segundo o estudo realizado.

Assim, aquando da adição de baba de caracol com água destilada, aos produtos de cosmética, deverá ser tida em conta a massa de água destilada adicionada, de forma a manter a mesma correlação apresentada na bibliografia (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), ou a realização de um processo de liofilização da baba, previamente à preparação dos produtos de cosmética.

Analisando as concentrações de proteínas presentes no volume de amostra de onde proveio a baba de caracol para cada produto de cosmética, obteve-se uma concentração total de proteínas, em cada produto de cosmética de $0,1483 \text{ g/mL} \pm 4,426 \times 10^{-2} \text{ g/mL}$

3.3.5. Determinação da Concentração de Açúcares Totais

Após a medição das densidades óticas a 490 nm, com utilização do método fenol-sulfúrico (Lorenzi e Martins 2008; Albalasmeh *et al.*, 2013), para as amostras em triplicado de baba de caracol, provenientes dos ensaios (EBCF) e obtidas em duplicado para os ensaios (EB), foi determinada a concentração de açúcares totais presentes na baba, para cada ensaio. São descritas as médias dos valores das concentrações de açúcares totais na baba de caracol, para volumes de amostra de 0,5 mL dos ensaios (EBCF) na Tabela 3.22. Tal como já indicado, o ensaio (EBCF1) não foi possível de recuperar após o processo de filtração aplicado. As densidades óticas para determinação das concentrações de açúcares totais presentes na baba de caracol das amostras (EB) e (EBCF), encontram-se descritas na Tabela N.1 (ver anexo N).

Novamente, os valores de concentrações de açúcares totais presentes na baba de caracol, entre cada conjunto de ensaios com diferenciação de purgas realizadas previamente aos processos de extração, não diferem significativamente e, assim, essa distinção dos processos de purga não influenciam nos valores de concentração de açúcares totais obtidos. Desta forma, os dados foram analisados em conjunto, tal como nas concentrações de proteínas presentes na baba.

Analisando os dados da Tabela 3.22, verifica-se que os valores de desvio padrão demonstram que a variação dos dados obtidos é bastante elevada em relação ao valor médio determinado.

Tabela 3.22 – Valores das concentrações de açúcares presentes no volume de 0,5 mL na baba de caracol nos ensaios (EBCF).

Ensaio	C média açúcares totais (mg/mL)
EBCF1	-
EBCF2	$1,855 \times 10^{-1}$
EBCF3	$5,062 \times 10^{-2}$
EBCF4	$3,475 \times 10^{-2}$
EBCF5	$5,334 \times 10^{-2}$
EBCF6	$4,429 \times 10^{-2}$
EBCF7	$1,509 \times 10^{-2}$
EBCF8	$3,430 \times 10^{-2}$
EBCF9	$5,953 \times 10^{-2}$
EBCF10	$1,491 \times 10^{-1}$
EBCF11	$6,484 \times 10^{-2}$
EBCF12	$6,570 \times 10^{-2}$
EBCF13	$3,361 \times 10^{-2}$
EBCF14	$1,584 \times 10^{-1}$
EBCF15	$3,393 \times 10^{-2}$
EBCF16	$3,521 \times 10^{-2}$
EBCF17	$2,400 \times 10^{-2}$
EBCF18	$7,422 \times 10^{-2}$
EBCF19	$6,032 \times 10^{-2}$
EBCF20	$6,481 \times 10^{-2}$
EBCF21	$4,265 \times 10^{-2}$
EBCF22	$6,330 \times 10^{-2}$
EBCF23	$1,958 \times 10^{-2}$
EBCF24	$9,083 \times 10^{-2}$
EBCF25	$4,619 \times 10^{-2}$
EBCF26	$4,636 \times 10^{-2}$
EBCF27	$4,623 \times 10^{-2}$
EBCF28	$4,105 \times 10^{-2}$
EBCF29	$3,308 \times 10^{-2}$
EBCF30	$1,748 \times 10^{-2}$
Média	$5,822 \times 10^{-2}$
Mínimo	$1,509 \times 10^{-2}$
Máximo	$1,85 \times 10^{-1}$
Desvio Padrão	$4,092 \times 10^{-2}$
Coefficiente de variação (%)	70,293

O coeficiente de variação obtido para os valores de concentração de açúcares totais descreve uma razão bastante elevada entre o valor de desvio padrão e a média aritmética descrita. De salientar que os valores obtidos são muito inferiores, comparativamente com a concentração de proteínas presente na baba de caracol, descrevendo propriedades químicas, de qualidade considerável da mesma, para amostras de baba de caracol provenientes de amostras (EBCF).

Na Tabela 3.23 são descritas as médias dos valores das concentrações de açúcares totais na baba de caracol, para volumes de amostra de 0,5 mL, obtidas em duplicado de amostras de baba (EB), tal como já referido no procedimento experimental, pois o volume de baba produzido em cada ensaio não foi suficiente para uma determinação das densidades óticas em triplicado.

Para a análise apresentada não foram ponderadas as amostras (EB7), (EB8), (EB16), (EB17) e (EB28), visto não ter sido possível pipetar a baba de caracol, por apresentar uma consistência muito viscosa, formando uma aderência significativa às pontas da micropipeta utilizada ou contendo por vezes bolhas de ar aprisionado.

Tabela 3.23 – Valores das concentrações de açúcares totais presentes no volume de 0,5 mL de baba, nos ensaios (EB).

Ensaio	C média açúcares totais (mg/mL)
EB1	$1,158 \times 10^{-1}$
EB2	$1,167 \times 10^{-1}$
EB3	$1,135 \times 10^{-1}$
EB4	$3,402 \times 10^{-2}$
EB5	$2,487 \times 10^{-2}$
EB6	$2,325 \times 10^{-2}$
EB7	Não foi possível pipetar (baba muito viscosa)
EB8	Não foi possível pipetar (baba muito viscosa)
EB9	$1,194 \times 10^{-1}$
EB10	$4,016 \times 10^{-2}$
EB11	$1,135 \times 10^{-1}$
EB12	$1,172 \times 10^{-1}$
EB13	$3,903 \times 10^{-2}$
EB14	$7,544 \times 10^{-2}$
EB15	$1,094 \times 10^{-1}$
EB16	Não foi possível pipetar (baba muito viscosa)
EB17	Não foi possível pipetar (baba muito viscosa)
EB18	$1,072 \times 10^{-1}$
EB19	$7,741 \times 10^{-2}$
EB20	$4,252 \times 10^{-2}$
EB21	$2,925 \times 10^{-2}$
EB22	$3,411 \times 10^{-2}$
EB23	$2,330 \times 10^{-2}$
EB24	$3,293 \times 10^{-2}$
EB25	$7,986 \times 10^{-2}$
EB26	$1,231 \times 10^{-1}$
EB27	$4,341 \times 10^{-2}$
EB28	Não foi possível pipetar (baba muito viscosa)
EB29	$1,113 \times 10^{-1}$
EB30	$7,814 \times 10^{-2}$
Média	$7,300 \times 10^{-2}$
Mínimo	$2,325 \times 10^{-2}$
Máximo	$1,231 \times 10^{-1}$
Desvio Padrão	$3,849 \times 10^{-2}$
Coefficiente de variação (%)	52,732

Pela análise realizada à Tabela 3.23, verifica-se que os valores de desvio padrão e os valores do coeficiente de variação, evidenciam uma dispersão dos valores obtidos em torno da média. De referir, também, que as concentrações de baba dos ensaios (EBCF) foram medidas com a água destilada adicionada durante o processo de extração, o que proporciona valores de concentrações de açúcares totais inferiores à baba proveniente das amostras denominados por (EB). Analisando as concentrações de açúcares totais presentes no volume de amostra de onde proveio a baba para cada produto de cosmética, obteve-se uma concentração total de açúcares totais em cada produto de cosmética de $8,238 \times 10^{-2} \text{ g/mL} \pm 2,669 \times 10^{-2} \text{ g/mL}$.

É importante não só a presença de proteínas na baba pelos seus efeitos benéficos, mas também uma diminuição da concentração de açúcares, pois provocam o envelhecimento da pele por ação de glicosilação ou também designada por “AGE’s (*Advanced Glycation End-Products*)” que atuam por reticulação covalente nas ligações de colagénio e elastina que suportam a derme, impossibilitando não só a ação como o reparo das proteínas presentes na baba (Danby, 2010).

3.4. Preparação de Produtos de Cosmética

A preparação dos produtos de cosmética teve como base os dados descritos por Abad (1996) e Wang e co-autores (2010), tendo-se decidido preparar três produtos que não só tivessem em comum alguns dos componentes presentes na sua composição para minimizar os custos de produção, como apresentassem uma mais-valia a nível comercial e terapêutico. A informação necessária à preparação dos cremes de cosmética encontra-se descrita nos anexos P e Q.

Para preparação dos três produtos escolhidos decidiu-se utilizar a baba produzida nos ensaios denominados por (EBCF2) a (EBCF15), que foi obtida por sucção dos caracóis com adição de água destilada e sujeita aos processos de centrifugação, filtração e congelação. Foram utilizados estes ensaios, não só por se tratarem dos ensaios onde se obteve um processo de extração com um valor elevado de massa de baba de caracol, mas também por se tratarem dos ensaios, que purificados, descrevem valores de concentração de proteínas superiores e, por consequência, valores de concentração de açúcares totais inferiores. De referir ainda que os produtos de cosmética preparados mantêm a sua estabilidade química entre as temperaturas de -20°C até 70°C (Abad, 1996). Na Figura 3.10 apresentam-se os três produtos de cosmética preparados.



Figura 3.10 – Produtos de cosmética preparados, contendo baba de caracol. 1 = creme nutritivo de mãos; 2 = líquido hidratante para limpeza da pele normal ou oleosa; 3 = creme antirrugas.

De salientar que durante a preparação do creme antirrugas, a adição do alúmen de potássio ao excipiente antes de todos os outros componentes, realizada de acordo com o sugerido na literatura (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), solidificou repentinamente o excipiente, o que dificultou a passagem do creme preparado do gobelé de preparação, para o recipiente final.

O creme antirrugas apresentou uma aparência em grumos que os restantes produtos não apresentaram durante a sua preparação. O líquido hidratante sofreu uma solidificação após um mês de preparação do produto, o que significa que apresenta uma validade muito reduzida para comercialização. O valor de preparação de cada produto foi de 3,74 €/100 g de creme nutritivo de mãos, 3,27 €/100 g de líquido hidratante e de 4,29 €/100 g de creme antirrugas. Nestes cálculos, apenas se consideram os custos dos reagentes utilizados na preparação dos produtos de cosmética e não os encargos associados à produção de caracóis nem ao processo de extração de baba de caracol. Após preparação os produtos de cosmética foram conservados a -3°C.

3.5. Testes de Satisfação aos Produtos de Cosmética

Para determinação dos níveis de satisfação de potenciais consumidores relativamente aos três produtos de cosmética preparados, foram realizados questionários de satisfação, seguindo uma análise de resposta em escolha múltipla de forma a determinar a sua potencial aceitação comercial. Estes testes foram realizados a uma amostra populacional de 13 indivíduos do sexo feminino e 7 indivíduos do sexo masculino, sendo facultadas todas as informações necessárias para a sua realização. De forma a auxiliar a informação prestada a cada participante no estudo foi facultado um consentimento informado, devidamente assinado e datado de acordo com o apresentado no anexo C. O modelo de questionário de satisfação fornecido apresenta-se em anexo (ver anexo D). De realçar que o anonimato, bem como os direitos à integridade de cada participante da amostragem populacional foram assegurados. Na Tabela 3.24 apresentam-se as respostas de cada participante, fornecidas nos questionários de satisfação.

Tabela 3.24 – Respostas de cada participante ao questionário de satisfação.

Nível de satisfação visual dos produtos de cosmética	Questões									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Número de respostas a cada questão									
Muito boa	8	8	3	3	3	3	-	-	-	-
Boa	8	7	8	4	6	1	-	-	-	-
Normal	4	5	5	10	7	8	-	-	-	-
Um pouco pior	-	-	4	2	3	6	-	-	-	-
Muito pior	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Sim	-	-	-	-	-	-	18	9	9	7
Não	-	-	-	-	-	-	2	1	2	5
Dependendo do valor comercial	-	-	-	-	-	-	-	10	9	8

Denota-se que o creme nutritivo de mãos foi o mais apelativo, em termos visuais, sendo ainda o produto que maior aceitação apresenta, caso se encontrasse à venda no mercado. Esta análise deve ter sempre em consideração o valor comercial. Na amostra populacional, existe uma percentagem de 90,0% que considera vantajoso comprar um produto contendo baba de caracol.

3.6. “Scale-Up” do Processo de Extração

Como proposta para a industrialização do processo de extração de baba sugere-se a adoção de um processo subdividido em três secções, similar ao apresentado por Colognesi *et al.* (2013).

Com base nos resultados do presente projeto, sugere-se a extração por sucção de baba com administração de água destilada por pulverização. Neste processo os caracóis seriam colocados numa caixa de confinamento com um fundo e uma tampa em rede, para serem submetidos a um processo de purga de 1 a 5 dias (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010; Colognesi *et al.*, 2013).

Na Figura 3.11 apresenta-se a caixa de confinamento descrita. A abstinência alimentar e a purga dos espécimes teria como finalidade a eliminação dos dejetos provocados pelos espécimes de forma a minimizar a contaminação da baba e, em consequência, reduzir os custos de manutenção do microfiltro utilizado no setor de filtração, do processo de extração de baba.

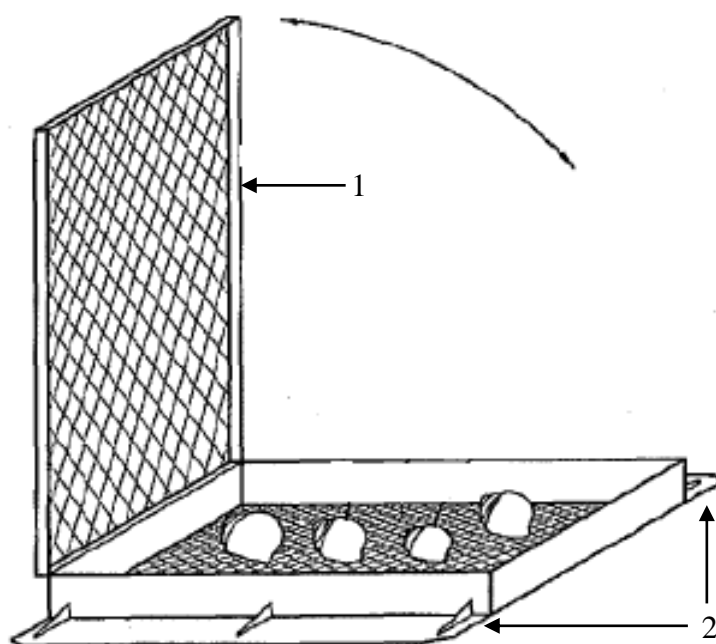


Figura 3.11 – Caixa de confinamento dos gastrópodes terrestres para incorporação no processo de extração. 1=tampa da caixa de confinamento em rede, 2= laterais de suporte da caixa nos rolamentos do processo (adaptado de Colognesi *et al.*, 2013).

A transferência dos espécimes para as caixas de purga seria realizada de forma manual, tal como já se encontra contemplado no processo de helicicultura (Habbad, 2004; Gabriel, 2013). Uma vez colocados os caracóis no interior da caixa de confinamento, seria fechada a caixa, dando início ao processo de abstinência alimentar e purga. Antes da incorporação na caixa, deve ser realizada uma inspeção geral aos caracóis, removendo os que apresentarem algumas anomalias ao nível estrutural da concha ou do miolo, para evitar a contaminação da baba de caracol obtida.

Cada caixa de confinamento proposta por Colognesi e co-autores (2013) comporta um número de 180 caracóis (40 cm de comprimento; 40 cm de largura; 3 cm de altura). Sabendo que a empresa *MiranHélix, Lda.* obtém uma produção anual de 8 toneladas de caracóis e estimando que o peso em média de um espécime, da espécie *Helix aspersa máxima*, é de 30 g, em concordância com os valores apresentados na Tabela 1.1, poderá ser realizado um aumento da lateral da caixa de confinamento e possível determinação não só do número de espécimes a considerar dentro da caixa de confinamento como do número de extrações necessárias.

De salientar que a altura da caixa de confinamento serve para impedir o movimento vertical dos espécimes, não necessitando de variação do seu valor (Colognesi *et al.*, 2013). Assim, o número aproximado de caracóis a incorporar na caixa de confinamento é dado pela equação seguinte.

$$N^{\circ}_{caracóis,anual} = \frac{m_{espécimes\ produzida}}{\bar{m}_{especime}} \quad (6)$$

Onde $N^{\circ}_{caracóis,anual}$ descreve o número de caracóis produzidos anualmente para produção de baba de caracol, $m_{espécimes\ produzida}$ é a massa total anual de espécimes produzida e $\bar{m}_{especime}$ é a massa de cada caracol da espécie *Helix aspersa máxima*, em média, da literatura apresentada na Tabela 1.1, no capítulo 1, do presente documento. De forma a determinar o número total de caixas de confinamento necessárias para realização do processo de extração a todos os espécimes produzidos anualmente é possível realizar através da equação (7).

$$N^{\circ}_{extrações} = \frac{N^{\circ}_{caracóis,anual}}{N^{\circ}_{caracóis,caixa\ de\ confinamento}} \quad (7)$$

Em que $N^{\circ}_{extrações}$ descreve o número total de caixas de confinamento necessárias para realização do processo de extração, $N^{\circ}_{caracóis,anual}$ é o número de caracóis produzidos anualmente para produção de baba de caracol e $N^{\circ}_{caracóis,caixa\ de\ confinamento}$ é o número total de espécimes que cada caixa de confinamento suporta.

Após o período de abstinência alimentar, a caixa de confinamento com os espécimes purgados seria conduzida, através de uma passadeira rotativa até um contentor com água proveniente da rede pública sendo mergulhados nesse tanque durante a passagem para a secção de extração. Este processo não só facilitaria a pré-hidratação dos espécimes antes do processo de extração, como proporcionaria uma maior limpeza dos mesmos.

Seguindo a linha de produção, os caracóis seriam encaminhados para um setor com comportas amovíveis na qual seria administrada a hidratação dos espécimes com água destilada, para limpeza de quaisquer dejetos ainda adjacentes aos caracóis e de algumas substâncias que estivessem dissolvidas na água proveniente da rede pública, utilizada no setor anterior. Esta hidratação ocorreria durante 5 segundos, tal como sugerido por Colognesi e co-autores (2013).

De seguida seriam encaminhados para uma novo setor, também separado por comportas amovíveis, para início do processo de extração de baba de caracol por sucção com adição de água destilada durante o processo. O tempo neste setor seria de cerca de 9 minutos, conforme determinado na secção 3.2.4, do presente documento.

Este setor seria acoplado a um funil na base da caixa de confinamento e conectado a uma bomba de vácuo para sucção da baba. No final do funil seria aplicado um microfiltro de porosidade até 0,5 µm para remoção dos agentes patogénicos na baba. Para aumento da qualidade da baba de caracol poderá ainda se acoplado um sistema de esterilização por raios gama após o processo de filtração (Castro *et al.*, 2006; Espinoza e Schwartzman, 2007).

Na Figura 3.12 apresenta-se uma visão lateral pormenorizada do segundo setor para o processo de extração de baba de caracol descrito e dos setores para administração de água destilada.

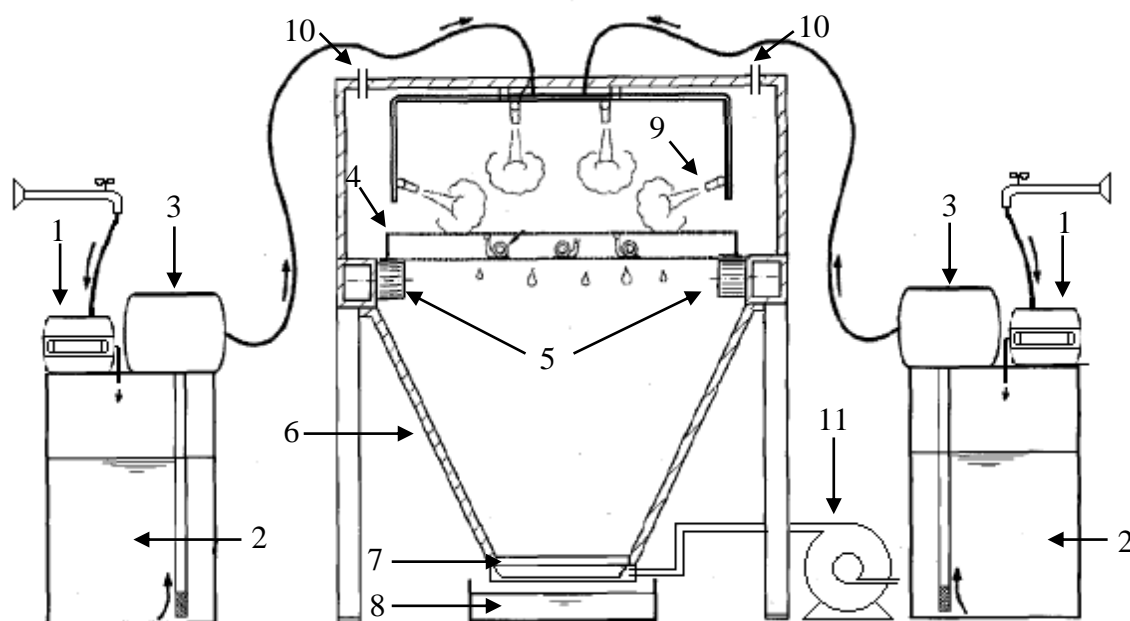


Figura 3.12 – Visão lateral pormenorizada do segundo setor para o processo de extração de baba com sucção dos espécimes e adição de água destilada durante o processo de extração. 1= coluna de destilação para produção da água destilada, 2= tanque de armazenamento da água destilada, 3= bomba hidráulica para fornecimento de água destilada aos pulverizadores, 4= caixa de confinamento, 5= rolamentos, 6= funil, 7= microfiltro, 8= compartimento de recolha de baba de caracol, 9= pulverizadores, 10= microfuros para impedimento do vácuo no setor, 11= bomba de vácuo para sucção (adaptado de Colognesi *et al.*, 2013).

Por fim, o caracol seria encaminhado para um terceiro setor onde seria hidratado com água destilada para ganho de massa corporal e recolha de baba de caracol que não tenha sido transferida no setor anterior para o compartimento de recolha de baba (Colognesi *et al.*, 2013). Cada setor, de acordo com o proposto por Colognesi e co-autores, apresenta as dimensões de 50 cm de comprimento, por 50 cm de largura e por 30 cm de altura (Colognesi *et al.*, 2013)

Na Figura 3.13 é apresentada a visão frontal de todo o processo de extração de baba de caracol por sucção dos espécimes, com administração de água destilada durante o processo de extração. Cada setor deverá assim ser dimensionado numa proporção idêntica ao dimensionamento da caixa de confinamento para extração de baba. Para monitorização de todas as secções é sugerido na literatura que seja aplicado um sistema de um Controlo Lógico Programável (PLC), com adição de sensores podendo determinar parâmetros em várias fases, consoante as necessidades do utilizador, ou caso seja necessário um procedimento imediato (Colognesi *et al.*, 2013).

A aplicação de vibrações pelos rolamentos apresentados na Figura 3.12 proporcionaria um aumento do *stress* induzido aos caracóis, auxiliando a produção de baba de caracol, como facilitaria a remoção da baba da rede contida na caixa de confinamento para o recipiente de recolha (Colognesi *et al.*, 2013). Cada pulverizador deve debitar um caudal de 0,25 mL/s de água destilada durante o processo de extração. Este valor poderá variar caso seja alterado o número de espécimes em cada setor ou as dimensões de cada setor (Colognesi *et al.*, 2013).

Para maximização do processo de extração e de forma a minimizar o espaço ocupado, poderá ser aplicado a cada setor uma adição de processos na horizontal, apresentada na Figura 3.13.

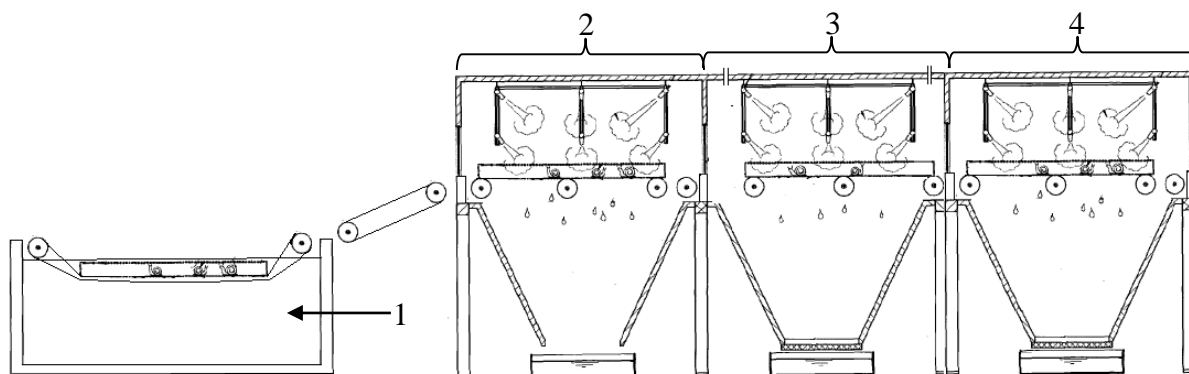


Figura 3.13 – Visão frontal de todo o processo de extração de baba de caracol com sucção dos espécimes e com adição de água destilada durante o processo de extração. 1= Contendor com água proveniente da rede pública, 2= Primeiro setor, 3= Segundo setor, 4= Terceiro setor (adaptado de Colognesi *et al.*, 2013).

Na Figura 3.14 apresenta-se uma incorporação de três processos de extração de baba de caracol na horizontal, aplicada a cada setor descrito.

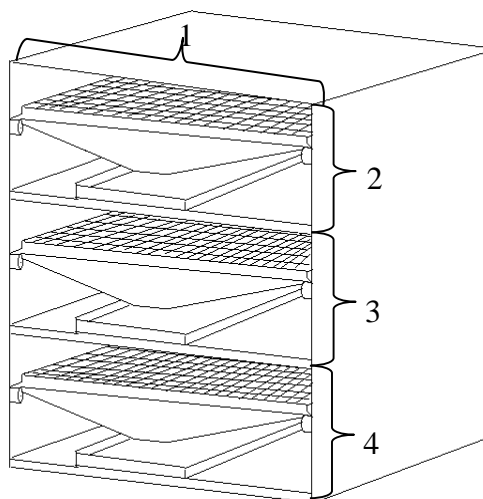


Figura 3.14 – Esquema de incorporação de três processos de extração na horizontal, para cada setor. 1= Setor, 2= Primeiro processo de extração, 3= Segundo processo de extração, 4= Terceiro processo de extração.

A adição de água destilada ao processo de extração de baba de caracol torna a baba menos viscosa e mais fluida apresentando um maior escoamento no funil utilizado durante a extração. Este processo permite, ainda, a aplicação de um processo de liofilização da baba após o processo de extração (Colognesi *et al.*, 2013). Após o processo de extração, os espécimes podem ser novamente incorporados nos respetivos parques no interior da estufa ou serem comercializados, sem terem sofrido danos ao nível estrutural da concha ou do miolo. Todos os equipamentos utilizados deverão ser em material plástico ou de aço inoxidável de forma a minimizar a contaminação do produto por agentes externos, bem como para prevenir a abrasão do material (Colognesi *et al.*, 2013), visto que a baba apresenta um nível de acidez significativo.

4. CONCLUSÃO

A título conclusivo, constatou-se que os gastrópodes terrestres apresentam uma morfologia complexa mas de vasto interesse a nível investigativo. A espécie *Helix aspersa máxima* em particular necessita de condições não só ambientais como nutritivas para um bom desenvolvimento de forma a proporcionar a maximização de um processo de extração de baba.

Após o estudo realizado foi possível verificar que o rácio entre a massa de alimentação à base de ração e a massa de espécimes utilizados apresenta a sua otimização, a nível laboratorial, no valor de $2,81 \times 10^{-2}(\text{w/w}) \pm 1,96 \times 10^{-3}(\text{w/w})$, muito inferior ao referido pela literatura que revela um valor de razão mássica de 1,5 (w/w) (Haddad, 2004), valor obtido a nível industrial.

No entanto, é necessário referir que a contabilização do excesso de alimentação foi qualificada por um processo visual e subjetivo. Esta não concordância entre o valor obtido e o valor bibliográfico poderá estar associada a que o valor bibliográfico, por ser definido a nível industrial, não engloba o desperdício de ração na lavagem dos suportes onde é distribuída a alimentação, à base de ração. Assim, os resultados obtidos no presente projeto poderão indicar qual o valor ótimo para que deverá tender a razão entre a alimentação à base de ração, disponibilizada aos caracóis e a massa de espécimes considerados para o processo de extração.

Para otimização de quatro processos de extração de baba de caracol por estímulo de cada espécime com uma vareta de vidro, por centrifugação, por sucção e por sucção com administração de água destilada, realizados na época outono-inverno, conclui-se que o processo de extração que apresenta uma maior produção de baba é o que ocorre por sucção, com administração de água destilada (EAH), apresentando um valor médio de baba produzida de $3,3819 \text{ g} \pm 0,7203 \text{ g}$. Já o menor valor de tempo ótimo de extração foi obtido para o processo de extração de baba por sucção de cada espécime (EA), de 8 minutos. O máximo valor de baba de caracol produzida, por apenas um espécime, foi obtido para o processo de extração de baba por estímulo de cada espécime com uma vareta de vidro (EV), de 8,2900 g.

A otimização do processo de extração de baba de caracol ocorre para quando a razão mássica de baba produzida, por massa de caracol processado, é máxima. O maior valor de razão mássica foi obtido para o processo de extração por sucção, com administração de água destilada ao caracol, obtendo os valores de $0,1931(\text{w/w}) \pm 3,642 \times 10^{-2}(\text{w/w})$ para os ensaios denominados por (EAH) e de $0,2498(\text{w/w}) \pm 4,437 \times 10^{-2}(\text{w/w})$ para os ensaios denominados por (EAHS). Constata-se que a administração de água destilada é um fator preponderante no processo de extração de baba, minimizando a perda de massa corporal dos caracóis, em conformidade com a bibliografia consultada (Colognesi *et al.*, 2013). Assim, é, ainda, possível constatar que extrações de baba a gastrópodes terrestres na época primavera-verão produzem, em média, maior quantidade de baba, que extrações de baba a caracóis na época outono-inverno. Contudo não foram considerados no presente trabalho testes sazonais, pois seriam necessárias várias extrações, não só em épocas diferentes, como em anos diferentes, para consolidar tal conclusão.

Ainda no âmbito dos processos de extração de baba, verificou-se uma atividade metabólica do caracol, que ocorre em simultâneo com a produção de baba, mas que não é direcionada para a sua secreção. Essa atividade metabólica é verificada pelas diferenças de perda de massa de cada espécime, com a massa acumulada de baba produzida, podendo ser justificada por perda de água corporal por transpiração do espécime, sendo intensificada pelo fator de *stress* induzido.

De salientar que a utilização de dois processos de purga diferentes, anteriores à extração de baba, não influenciam os valores de massa de baba produzida, nem afetam os valores das propriedades físico/químicas estudadas para amostras de baba produzida por sucção, com administração de água destilada (EAHS), das mesmas amostras após um processo de centrifugação e filtração (EBCF) e de amostras de baba obtida por sucção, sem adição de água destilada (EB). Esta conclusão define uma vantagem no processo de extração de baba de caracol, podendo o helicicultor estipular qual purga se adequa às suas necessidades.

A análise dos valores de pH às amostras de baba de caracol divulgou que a baba de caracol apresenta um caráter ácido. Constatou-se que existe um aumento dos níveis de acidez, nas amostras de baba de caracol centrifugadas e filtradas (EBCF), comparativamente com as mesmas amostras de baba, obtidas previamente a esses processos (EAHS). Como apenas é analisado o sobrenadante filtrado, o aumento dos valores de pH nas amostras purificadas pode resultar de um aumento da concentração de ácidos presentes no sobrenadante, como o ácido glicólico, com a deposição da matéria sólida, no processo de centrifugação da baba.

Apesar de os valores não apresentarem grande variação de pH esta constatação pode ser prejudicial ao processo de extração, podendo provocar uma maior corrosão dos materiais utilizados no processo industrial, bem como uma maior acidez dos produtos de cosmética posteriormente produzidos, sendo importante a determinação prévia do pH. Obteve-se assim uma média de valores de pH de $4,82 \pm 0,1781$ para baba de caracol extraída pelo processo de extração por sucção, com administração de água destilada durante o processo (EAHS) e uma média de valores de pH de $4,57 \pm 0,2293$, para os mesmos ensaios após o processo de purificação por centrifugação e filtração (EBCF). Obteve-se, ainda, uma média de valores de pH para baba de caracol extraída pelo processo de extração por sucção (EB), de $4,74 \pm 0,2334$.

Foi obtida a relação entre a média dos valores de massa volúmica a diferentes temperaturas, onde se constata uma diminuição da massa volúmica, com adição de água destilada, tal como seria de esperar, o que comprova o benefício de administração de água destilada, não só para o caracol, como para tratamento da baba. Pela análise das amostras de baba obtidas por sucção (EBCF), verifica-se uma média de massa volúmica de 1,05 g/mL, para a temperatura de 25°C.

Analisando a viscosidade da baba de caracol, foi possível obter as equações que relacionam a viscosidade dinâmica em função da temperatura, para as amostras obtidas por sucção com administração de água destilada (EAHS), de $\bar{\mu}_{\text{ensaios (EAHS)}} = -4,0 \times 10^{-4} \times T + 2,34 \times 10^{-2}$ e para as amostras após um processo de centrifugação e de filtração, utilizadas na preparação dos produtos de cosmética (EBCF), de $\bar{\mu}_{\text{ensaios (EBCF)}} = -3,0 \times 10^{-4} \times T + 1,76 \times 10^{-2}$.

As amostras de baba de caracol denominadas por (EBCF) apresentaram uma média de concentrações de proteínas de $6,301 \text{ mg/mL} \pm 3,387 \text{ mg/mL}$ e uma média de concentrações de açúcares totais de $5,822 \times 10^{-2} \text{ mg/mL} \pm 4,092 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$. Analisando as amostras de baba de caracol denominadas por (EB), obteve-se o valor de $21,590 \text{ mg/mL} \pm 4,404 \text{ mg/mL}$, para a média de concentrações de proteínas e o valor de $7,300 \times 10^{-2} \text{ mg/mL} \pm 3,849 \times 10^{-2} \text{ mg/mL}$, para a média de concentrações de açúcares totais. O conjunto de amostras de baba de caracol adicionadas aos produtos de cosmética apresentou uma média de concentrações de proteínas de $0,1483 \text{ g/mL} \pm 4,426 \times 10^{-2} \text{ g/mL}$, e o valor de $8,238 \times 10^{-2} \text{ g/mL} \pm 2,669 \times 10^{-2} \text{ g/mL}$, para a média de concentrações de açúcares totais, valores obtidos por análise espectrofotométrica.

A preparação dos três produtos de cosmética foi realizada com os ensaios de baba de caracol, obtida após filtração e centrifugação de extrações com administração de água destilada (EBCF). Esta escolha de amostras de baba proveio não só por se tratarem dos ensaios onde se obteve um processo de extração com um maior valor de massa acumulada de baba produzida, mas também por se tratarem dos ensaios, que purificados, descrevem uma concentração de proteínas superior e uma concentração de açúcares totais inferior, comparando com os restantes ensaios obtidos.

Será necessário referir que durante a preparação do creme antirrugas, a adição do alumínio de potássio ao excipiente antes dos restantes componentes, tal como sugerido na bibliografia (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), provocou uma reação de solidificação repentina, o que dificultou a passagem do creme para o recipiente final. O creme antirrugas apresentou uma aparência em grumos durante a sua preparação, o que não se observou nos restantes produtos de cosmética preparados. O líquido hidratante sofreu uma solidificação após um mês de preparação do produto, o que indica uma validade muito reduzida para comercialização.

Obteve-se assim uma percentagem de 60,0% de participantes femininos na amostra populacional que realizou os questionários de satisfação aos produtos de cosmética. O creme nutritivo de mãos foi o mais apelativo em termos visuais, sendo o produto que maior aceitação apresenta, caso se encontrasse à venda no mercado. A percentagem de amostra populacional que declarou comprar um produto de cosmética contendo baba de caracol foi de 90,0%. Foi, ainda, idealizado um modelo para um processo de extração de baba de caracol por sucção ao nível do pé e com administração de água destilada durante o processo, a um conjunto de gastrópodes terrestres, adaptado de um processo similar apresentado por Colognesi (Colognesi *et al.*, 2013).

Para trabalhos futuros, deverá ser realizada uma análise bacteriológica da baba de caracol purificada com e sem adição de um processo de esterilização e uma liofilização da baba, previamente à incorporação da mesma aos produtos de cosmética, para comparação com os produtos apresentados neste documento. Será necessário reduzir a porosidade do microfiltro utilizado no processo de filtração, para obtenção de uma baba com carga bacteriológica inferior, evitando, assim, o processo de congelação. A centrifugação da baba de caracol deverá ser realizada com auxílio de uma centrífuga que suporte funis de decantação, para facilitar a separação do sobrenadante. Deverá, ainda, ser determinada a pressão de vácuo ótima a nível industrial, para cada quantidade de baba pretendida, sem prejudicar o bem-estar dos caracóis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abad, Rafael. 1996. *Therapeutic and Cosmetic Compositions for Treatment of Skin*. 5,538,740 [ed.] Ltd. Atherton Investments. Spain. julho 23.

Albalasmeh, Ammar A.; Berhe, Asmeret Asefaw; Ghezzehei, Teamrat A.. 2013. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*. Vol. 97, pp. 253–261.

Ansart, Armelle, Aulne; Pierre-Aymeric; Madec, Luc; Vernon, Philippe. 2008. Influence of temperature acclimation and gut content on the supercooling ability of the land snail *Cornu aspersum*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. Elsevier. Vol. 150, pp. 20-14.

Bába, Károly. 2000. Data on mucus production in some species of snails and slugs. *Nachrichtenblatt der Ersten Vorarlberger Malakologischen Gesellschaft*. Vol. 8, pp. 44-46.

Barel, André O., Paye, Marc; Maibach, Howard I. 2009. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*. 3°. Nova York. informa healthcare. pp. 313, 465-466, 978-1-4200-6963-1.

Bishop, T.; Brand, M. D. 2000. Processes Contributing to Metabolic Depression in Hepatopancreas Cells from the Snail *Helix Aspersa*. *The Journal of Experimental Biology*. The Company of Biologists. Vol. 203, pp. 3603–3612.

Bonnemain, Bruno. 2005. Helix and Drugs: Snails for Western Health Care From Antiquity to the Present. *Press, Oxford University*. eCAM, January 28. Vol. 2, Review, pp. 28-25.

Bradford, Marion M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*. janeiro 29. Vol. 72, pp. 248-254.

Campion, Mary. 1961. The Structure and Function of the Cutaneous Glands. *Journal of Microscopical Science*. June. Vol. 102, pp. 216-195.

Castro, Emma; Linares, Marco; Robles, Anita. 2006. Estudio sobre la irradiación de baba de caracol para aplicaciones cosméticas. *Informe Científico Tecnológico*. IPEN -Instituto Peruano de Energía Nuclear. pp. 177-180.

Colognesi, Alessandro; Borghi, Michele; Passarelli, Enrico. 2013. *Description, Process and Apparatus for the Extraction of Slime from Snail*. WO 2013/011371 A1 [ed.] Wipo|PCT. Itália, janeiro 24. World Intellectual Property Organization.

Coupland, James B. 1996. Influence of Snail Feces and mucus on Oviposition and Larval Behavior of *Pherbellia cinerella* (Diptera: Sciomyzidae). *Journal of Chemical Ecology*. CSIRO. Vol. 22, No. 2.

Danby, F. William. 2010. Nutrition and aging skin: sugar and glycation. *Clinics in Dermatology*. julho. Vol. 28, pp. 409–411.

Denny, Mark W. 1984. Mechanical Properties of Pedal Mucus and Their Consequences for Gastropod Structure and Performance. *Biomechanics*. Vol. 24, pp. 23-36.

- Dyer, Robert L.; Pogue, Lonnie C. 1988. *Snail Trap*. 4,761,912 E.U.A. agosto 9. United States Patent.
- Eichmuller, Karl; Dubach, Werner. 1982. *Snail Trap*. 4,328,637 [ed.] Createchnic Patent AG. Suíça. maio 11. United States Patent.
- Espinoza, María A. M.; Schwartzman, Luís Zaviezo. 2007. *Plan de Negócios para la Comercializacion del Caracol y su Baba*. Santiago de Chile: Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas - Departamento de Ingenieria Industrial.
- Ewoldt, Randy H.; Clasen, Christian; Hosoi, A. E.; McKinley, Gareth H.. 2007. Rheological fingerprinting of gastropod pedal mucus and synthetic complex fluids for biomimicking adhesive locomotion. *The Royal Society of Chemistry*. Vol. 3, pp. 634–643.
- Fountain, David W.; Campbell, Barry A. 1984. A Lectin Isolate from Mucus of *Helix Aspersa*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 2. Vol. 77B, pp. 419-425.
- Gabriel, Ana P. O. da Silva. 2013. *Contributo para o Estudo da Segurança Sanitária na Helicicultura em Portugal*. Lisboa, Portugal. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Gabriel, Uivarosan Ionel; Mirela, Sbanca; Ionel, Jianu. 2011. Quantification of mucoproteins (glycoproteins) from snails mucus, *Helix aspersa* and *Helix Pomatia*. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. JAP&T. Vol. 17, pp. 413-410.
- Gonzalez, Elmo Ernesto Moreno; Flores, Nieves Galdames. 2013. *Pharmaceutical Composition and Device for Preventing, Treating and Curing Ulcers on Diabetic Foot and Other Wounds, Which Includes Snail Slime from the Species Cryptophalus aspersus or Helix aspersa Müller and pharmaceutically Acceptable Carriers*. US 2013/0309296 A1 E.U.A., novembro 21. Patent Application Publication - Foreign Application Priority Data.
- Grindlay, Douglas; Reynolds, T. 1986. The Aloe vera phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *Journal of Ethnopharmacology*. Elsevier, December 11. Vol. 16, Nº 2-3, pp. 151-117.
- Habermann, E. 1972. Bee and Wasp Venoms. *Science*. Science. Vol. 177, p. 314.
- Haddad, Mohamed Habib. 2004. Etude sectorielle : l'élevage d'escargots – Partie monographique. *Journal Officiel de la République Tunisienne*. APIA - Agence de Promotion des Investissements Agricoles, julho. Le Ministere de l'Agriculture, de l'Environnement et des ressources hydrauliques.
- Hayashi, Carmino; Soares, Claudemir Martins; Furuya, Wilson Massamitu; Gonçalves, Giovanni Sampaio. 2005. Teores de cálcio em rações para o escargot francês *Helix aspersa maxima* em fase de crescimento. *Acta Scientiarum*. Vol. 27, pp. 57-61.
- Hickman, C. P.; Roberts, Larry S.; Larson, Allan. 2001. *Integrated Principles of Zoology*. Décima Primeira. New York. McGraw-Hill. 0–07–290961–7.
- Iglesias, J.; Santos, M.; Castillejo, J. 1996. Annual Activity Cycles of the Land Snail *Helix aspersa* Müller in Natural Populations in North-Western Spain. *The Malacological Society of London*. Vol. 62, pp. 495-505.

- Iguchi, Sanae M. M.; Akawa, Takashi; Matsumoto, Juichiro J. 1982. Antibacterial Activity of Snail Mucus Mucin. *Comp. Biochem. Physiol.* 3. Vol. 72A, pp. 571-574.
- Koene, Joris M.; Chase, Ronald. 1998. Changes in the Reproductive System of the Snail *Helix aspersa* Caused by Mucus from the Love Dart. *The Journal of Experimental Biology*. The Company of Biologists Limited. Vol. 201, pp. 2313-2319.
- Lai, Janice H.; Alamo, Juan C. del; Rodríguez-Rodríguez, Javier; Lasheras, Juan C.. 2010. The mechanics of the adhesive locomotion of terrestrial gastropods. *The Journal of Experimental Biology*. August 23. Vol. 213, pp. 3920-3933.
- Levene, P. A. 1925. The Mucoproteins of the Snails *Helix aspersa* and *Helix pomatia*. *The Journal of Biological Chemistry*. 3. Vol. 65, pp. 683-700.
- Lipták, Béla G. 1999. *Process Measurement and Analysis*. 4^a. s.l. : CRC Press. 0-8493-1083-0.
- Lorenzi, Adriana Tarlá; Martins, Maria de Fátima. 2008. Análise Colorimétrica e Espectroscópica do Muco de Caracóis Terrestres *Achatina sp* Alimentados Com Ração Diferenciada. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 3. Vol. 37, pp. 572-579.
- Madoz-Escande, C.; Simon, O. 2006. Contamination of terrestrial gastropods, *Helix aspersa maxima*, with ¹³⁷Cs, ⁸⁵Sr, ¹³³Ba and ^{123m}Te by direct, trophic and combined pathways. *Journal of Environmental Radioactivity*. Elsevier. Vol. 89, pp. 30-47.
- Martin, Roedel. 2010. *Automated Solid Phase Extraction of Allantoin from Cosmetics and Topical Pharmaceuticals Prior to Analysis by HPLC*. Dueren, Alemanha. Application Note. pp. 1-5. Application Note PHA0110.
- Mediavilla, Paulina del P. Lagos. 2008. *Implementación y Validación de una Metodología por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia para Determinar y Cuantificar Ácido Glicólico en Secreción de Caracol (Helix Aspersa Müller)*. Valdivia, Chile : Faculdade de Ciencias, Escuela de Química y Farmacia Universidad Austral de Chile.
- Mubarak, Mohamed Ahmed S. El; Lamari, Fotini N.; Kontoyannis, Christos. 2013. *Simultaneous determination of allantoin and glycolic acid in snail mucus and cosmetic creams with high performance liquid chromatography and ultraviolet detection*. Patras, Grécia. Elsevier.
- Pawlicki, J. M.; Pease, L. B.; Pierce, C. M.; Startz, T. P.; Zhang, Y.; Smith, A. M.. 2004. The effect of molluscan glue proteins on gel mechanics. *The Journal of Experimental Biology*. The Company of Biologists. Vol. 207, pp. 1135-1127.
- Pearce, Timothy A.; Örstan, Aydin. 2006. Chapter 23 - Rearing Terrestrial Gastropoda. *The Mollusks: A Guide to Their Study, Collection, and Preservation*. 1^o. pp. 287-293.
- Perry, Robert H.; Green, Don W. 2008. *Perry's Chemical Engineers' Handbook*. 8. Nova York. McGraw-Hill. p. 450. Vol. 2.

- Picq, Pascal; Vigarello, Georges; Nouschi, Marc; Gaillard, Françoise. 2009. *100 000 ans de beauté*. France. Gallimard. Vol. 1, 9782070125319.
- Poppe, Guido T.; Tagaro, Sheila P. 2006. *The New Classification of Gastropods According to Bouchet & Rocroi, 2005*. Filipinas. VISAYA. 1656-4650.
- Ramos-Vasconcelos, Gabriella R. e Hermes-Lima, Marcelo. 2003. Hypometabolism, antioxidant defenses and free radical metabolism in the pulmonate land snail *Helix aspersa*. *The Journal of Experimental Biology*. 206. pp.675-685.
- Routledge, Edwin J.; Parker, Joanne; Odum, Jenny; Ashby, John; Sumpter, John P.. 1998. Some Alkyl Hydroxy Benzoate Preservatives (Parabens) Are Estrogenic. *Toxicology and Applied Pharmacology*. Academic Press. Vol. 153, pp. 12-19.
- Rowe, Raymond C.; Sheskey, Paul J.; Quinn, Marian E. 2009. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6ª. Inglaterra. Pharmaceutical Press. 978 0 85369 792 3.
- Silva, Roberto do Nascimento; Monteiro, Valdirene Neves; Alcanfor, Joana D'Arc Ximenes; Assis, Elaine Meire; Aquieri, Eduardo Ramirez. 2003. Comparação de Métodos para a Determinação de Açúcares Redutores e Totais em Mel. *Ciênc. Tecnol. Ambient*. Vol. 3, pp. 337-341.
- Skingsley, D. R.; White, A. J.; Weston, A.. 2000. Analysis of Pulmonate Mucus by Infrared Spectroscopy. *J. Moll. Stud*. The Malacological Society of London. Vol. 66, pp. 371-363.
- Smith, Andrew M.; Morin, Martha C. 2002. Biochemical Differences Between Trail Mucus and Adhesive Mucus From Marsh Periwinkle Snails. *Biol. Bull*. Vol. 203, pp. 338-346.
- Song, Ji-Hee; Lee, Sungho. 2013. *TONYMOLY, Cosmetic Company: A Small but Smart Marketing Player*. Seoul, Coreia do Sul. Asia Marketing Journal. pp. 169-188.
- Stewart, B. W.; Biggar, R. J.; Lachenmeier, D. W. ; Singh, S.; Tsuda, H.; Baguley, B.; Marques, M. M.; Tseng, C.-H.; Knight, T. L.; Beland, F. A.; Betz, J. M.; Blanco, E. J. Carcache de; Cunningham, M. L.; Dunnick, J. K.; Guo, L.; Jameson, C. W.; Karagas, M.; Lunn, R. M.; McCormick, D. L.; Witt, K. L.; Zhou, S.. 2015. *Some Drugs and Herbal Products*. Lyon. IARC Monographs. pp. 37-67. Vol. 108. ISBN 978 92 832 0174 8.
- Strachan, Anna Lee. 2007. NOVA Science Now. *Crossing the world's most famous slowpoke with some of MIT's latest high-tech robotics*. [Online] Reiniger, Harlan, março 1. [Citado: dezembro 17, 2014.] <http://www.pbs.org/wgbh/nova/nature/snail-slime.html>.
- Toriumi, Dean M.; Raslan, Wasim F.; Friedman, Michael; Tardy, M. Eugene. 1990. Histotoxicity of Cyanoacrylate Tissue Adhesives - A Comparative Study. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 5, maio. Vol. 116, pp. 546-550.

Verdugo, P.; Deyrup-Olsen, I.; Aitken, M.; Villalon, M.; Johnson, D.. 1987. Molecular mechanism of mucin secretion: I. The role of intragranular charge shielding. *Journal of dental research*. MEDLINE. Vol. 66, pp. 508-506.

Visser, S. A.. 1965. Molluscicidal Properties and Selective Toxicity of Surface-Active Agents. *Bull Org mond Santé*. Vol. 32, pp. 713-719.

Wang, William; Yi, Jun; Ke, Sheng; Halmela, Maria. 2010. *Gastropod Biological Fluid, Method of Marketing and Refining and Use*. US 2010/0233111 A1 Chicago, USA, setembro 16. Patent Application Publication.

Welter-Schultes, Francisco; Altaba, Cristian R.; Audibert, Cédric. 2013. Comment on Cornu Born, 1778 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, HELICIDAE): request for a ruling on the availability of the generic name. *International Commission on Zoological Nomenclature*. Bulletin of Zoological Nomenclature, março. Vol. 69, Nº 2, pp. 127-124.

ANEXOS

Nesta secção encontram-se apresentados alguns dos dados necessários para a realização do estudo, bem como os exemplos de cálculo complementares ao tratamento de resultados, executados depois de toda a atividade experimental, com os respetivos dados bibliográficos.

A. Materiais e Equipamentos Utilizados

Nesta secção apresentam-se todos os materiais, equipamentos e reagentes utilizados durante toda a atividade experimental, bem como as respetivas descrições industriais de cada fabricante. Todos os materiais e reagentes foram de utilização comum ao longo de toda a atividade laboratorial. De referir que alguns materiais não apresentavam descrição ou rótulo, ou não foi possível determinar a sua origem, pelo que a sua identificação apenas foi descrita pela reconhecimento dada aquando da sua utilização no trabalho laboratorial.

Na Tabela A.1 apresentam-se todos os materiais de vidro utilizados ao longo de toda a atividade laboratorial, com a respetiva marca, volume e erro associado.

Tabela A.1 – Materiais de vidro utilizados ao longo de toda a atividade laboratorial.

Material	Marca	Volume	Erro
Balões de <i>Büchner</i>	<i>Duran Genne glass</i>	250 mL	-
Balões de <i>Erlenmeyer</i>	<i>Simax</i>	250 mL	-
Balões volumétricos	<i>Duran</i>	50 mL	±0,06 mL
Balões volumétricos	<i>Poliex</i>	100 mL	±0,1 mL
Balões volumétricos	<i>Linex NS 22/24</i>	1 L	±0,4 mL
Bureta	<i>Qualicolor N° 01 AS</i>	50 mL	±0,05 mL
Frasco de vidro escuro com tampa	-	2 L	-
Funil de vidro	-	-	-
Gobelés	<i>Labbox</i>	50 mL	-
Gobelés	<i>Simax</i>	100 mL	-
Gobelés	<i>Labbox LGB 3.3</i>	250 mL	-
Gobelés	<i>Scoot Duran</i>	1 L	-
Gobelé	<i>Simax</i>	2 L	-
Picnómetro	-	25 mL	-
Pipeta graduada	<i>Normax</i>	5 mL	±0,05 mL
Pipeta graduada	<i>Normax</i>	10 mL	±0,05 mL
Pipeta graduada	<i>Fortuna</i>	20 mL	±0,1 mL
Pipeta volumétrica	<i>Fortuna</i>	10 mL	±0,02 mL
Pipeta volumétrica	<i>Linex</i>	20 mL	±0,038 mL
Pipeta volumétrica	<i>Inex Portugal</i>	25 mL	±0,038 mL
Pipeta volumétrica	<i>Linex</i>	50 mL	±0,05 mL
Pipeta volumétrica	<i>Inex Portugal</i>	100 mL	±0,075 mL
Proveta de Vidro	<i>Fortuna</i>	50 mL	±0,5 mL
Proveta de Vidro	<i>Simax</i>	1 L	±10 mL

Na Tabela A.2 apresentam-se os equipamentos e os restantes materiais utilizados durante a atividade experimental e as respetivas características.

Tabela A.2 – Equipamentos e restantes materiais utilizados ao longo de toda a atividade laboratorial.

Material	Marca	Modelo	Amplitude	Erro
Aagitador Laboratorial	<i>EUROSTAR power-b IKA LABORTECHNIK</i>	ST-PB	50/2000 min ⁻¹	-
Balança analítica	<i>Mettler Toledo</i>	PB 3002	0,5 g/3100 g	±10 mg
Balança de precisão	<i>Mettler</i>	AE 200	Máx 200 g	±0,1 mg
Balança de precisão	<i>Mettler Toledo</i>	AB204	10 mg/210 g	±0,1 mg
Balança de precisão	<i>Mettler Toledo</i>	AG 204	Máx 210 g	±0,1 mg
Banho termoeatizado	<i>Analís Belgium</i>	-	5°C -100°C	-
Base de suporte Metálica	-	-	-	-
Bomba de vácuo	<i>Reagente5, Química e Electrónica, Lda</i>	Nº: 22, NA: 18, Ref. Nº 95136	0,1bar-1bar	-
Caneta de tinta permanente	<i>STAEDTLER lumocolor</i>	Art. Nº 317-3	-	-
Centrífuga	<i>Hettich</i>	EBA III D-7200	0/10	-
Centrífuga	<i>JOUAN B4 in</i>	Série:39909300, Ref Nº:11175600	Máx 4000rpm	-
Colher	-	-	-	-
Congelador Térmico	<i>AEG Electrolux</i>	-	-	-
Cronómetro Digital	-	-	-	-
Cuvette de vidro	-	-	-	-
Espátula	-	-	-	-
Espectrofotómetro	<i>UNICAN Helios γ</i>	Helios Genne NC: 9425UVG Nº: UUG080715	-	-
Estufa	<i>Nahita Drying Oven</i>	631 plus Ref. nº:50631061	5°C -250°C	±1,0 °C
Fita-cola	<i>Tesa Film</i>	-	-	-
Garra metálica	-	-	-	-
Garrafa de esguicho com água destilada	-	-	-	-
Garrafa de esguicho com álcool etílico	-	-	-	-
Luvas de proteção	-	-	-	-
Medidor de pH	<i>Metrohm 691 pH meter</i>	Tipo: 1.691.0010 Nº: 2PB/210	-	-
Microfiltro	<i>Ge Healthcare Life Sciences Whatman</i>	Glass Microfiber Filters GF/C; Ø: 47mm CAT Nº: 1822-047	-	-
Micropipeta 0,1 mL	<i>Accupet Pro</i>	-	0,01 mL/ 0,1 mL	-
Micropipeta 1 mL	<i>VWR Ergonomic High- Performance</i>	VWR VE1000/V1000	0,1 mL/1 mL	-
Micropipeta 5 mL	<i>VWR Ergonomic High- Performance</i>	VWR VE5000/V5000	1 mL/5 mL	-
Papel de filtro	<i>Análise Qualitativa</i>	Ø150 mm PN:1300150, Lote 17/11	-	-
Paquímetro digital	-	-	-	-
<i>Parafim</i>	<i>Pechiney Plastic Packaging</i>	PM996	-	-

Tabela A.2 – Equipamentos e restantes materiais utilizados ao longo de toda a atividade laboratorial (continuação).

Material	Marca	Modelo	Amplitude	Desvio
Parafusos	-	-	-	-
Pera de sucção	<i>Vitlab</i>	-	-	-
Pincel	-	-	-	-
Placa de aquecimento	<i>IKAMAG- Janke&Kunkel Ika Labortechnik</i>	Tipo: RH Nº: 464996	20/2000 min ⁻¹	-
Pontas para micropipeta de 0,1 mL	-	-	-	-
Pontas para micropipeta de 1 mL	-	-	-	-
Pontas para micropipeta de 5 mL	-	-	-	-
Refrigerador	<i>Techne DIP Cooler RU-200</i>	FRU2E Série: 78361-9GN	-	-
Sistema de Filtração	-	-	-	-
<i>Supercola</i>	<i>TANWEER Super Glue</i>	net wt. 30 gr	-	-
Suportes LDPE para caracóis aquando da extração	-	-	-	-
Tacómetro analógico	-	-	-	-
Telas de LDPE	-	-	-	-
TermoHigrómetro	<i>Digital Basic Houseplant</i>	B Model com sonda	0°C/60°C 20%/80%	±1°C/ ±5% (HR)
Termómetro analógico em mercúrio	<i>Precision</i>	-	10°C/100°C	0,5°C
Tubos de ensaio	-	-	-	-
Tubos falcon	-	-	-	-
Tubos metálicos para suporte das telas	-	-	-	-
Vareta de Vidro	-	-	-	-
Vidros de relógio	-	-	-	-
Viscosímetro capilar	<i>Cannon-Fenske</i>	nº 50, aparelhos nº 13470 e nº 13478	-	-
<i>Vortex</i>	<i>Nahita 681/5</i>	Code:50681500	-	-
Material	Comprimento	Largura	Cota	Diâmetro
Caixa em LDPE	24,9 cm	16,6 cm	15,3 cm	-
Caixa em LDPE	32,3 cm	20,2 cm	18,0 cm	-
Caixa em PET	20,4 cm	14,6 cm	5,4 cm	-
Caixa em PET (hexagonal)	6,2 cm	6,2 cm	7,0 cm	-
Copo para armazenamento da turfa biológica	-	-	11,8 cm	7,2 cm
Frasco com tampa - armazenamento da alimentação à base de ração	-	-	18,4 cm	12,2 cm
Rolhas de Cortiça	-	-	3,2 cm	3,7 cm
Tubos de escoamento em LDPE	9,2 cm	-	-	0,5 cm
Tubo em LDPE	70,2 cm	-	-	0,5 cm
Tubo em LDPE	40,3 cm	-	-	0,5 cm
Tubo em LDPE	25,7 cm	-	-	0,5 cm

Reagentes Utilizados

Na Tabela A.3.encontram-se apresentados os reagentes utilizados ao longo do estudo.

Tabela A.3 – Reagentes utilizados para realização do estudo.

Reagente	Estado		Empresa				Número do fabricante		
Alimento à Base de Ração	Sólido		EuroRações, Lda.				α PT5AA105IN		
			Rações Veríssimo, S.A.				α PT3AA071 IN		
Reagente	Estado	Empresa	F. Q.	Lote	CAS	Pureza	Ref. Lab.	M.M. (g/mol)	ρ (g/mL)
Ácido Clorídrico	Líquido	Fisher Scientific	HCl	1352676	7647-01-0	37	H/1200/PB15	36,46	1,18
Ácido fosfórico	Líquido	Riedel-deHaën	H ₃ PO ₄	9356M	7664-38-2	85	30417	98	-
Ácido sulfúrico concentrado	Líquido	Fisher Scientific	H ₂ SO ₄	1360902	7664-93-9	>95	86	98,07	1,83
Água de rosas	Líquido	MyLabel – Beauty Care	-	15 195	-	-	-	-	-
Álcool Cetílico	Sólido	Plena Natura	CH ₃ (CH ₂) ₁₅ OH	E13060102 A	36653-82-4	-	3031	242,4	-
Álcool Etilico	Líquido	E.F. PT	CH ₃ CH ₂ OH	15000829	64-17-5	96	5,007E+10	-	-
Alúmen de potássio	Sólido	Merk KGaA	KAl(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	1.01047.1000	7784-24-09	-	A937347702	474,4	-
Bórax (DI-Sódio tetra-Borate 10-hydrate)	Sólido	Panreac Química S.A.U.	Na ₂ B ₄ O ₇ .10H ₂ O	266425	1303-96-4	99,5	131644.1211	381,4	-
Carbonato de Cálcio	Sólido	-	CaCO ₃	-	471-34-1	-	88	-	-
Coomassie Brilliant Blue G-250	Sólido	Fisher Scientific	C ₄₇ H ₅₀ N ₃ O ₇ S ₂ +	-	6104-58-1	-	81	-	-
D-(+)-Glucose (anhydrous)	Sólido	Himedia Laboratories PVT. Ltd.	C ₆ H ₁₂ O ₆	87617	50-99-7	99	RM016	180,2	-
Fenol (Detached Cryst.)	Sólido	May & Baker – Rhône-Poulenc Group	C ₆ H ₅ OH	611	108-95-2	>99	45	94,11	-
Fenoltaleína	Líquido	-	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	-	77-09-8	-	-	-	-
Glicerina	Líquido	Himedia	C ₃ H ₈ O ₃	-	56-81-5	99,5	122	-	-
Hidróxido de Sódio	Sólido	Fisher Scientific	NaOH	1354558	1310-73-2	98	S/4920/60	40	-
Lanolina	Líquido	Medela	-	141211-8	8006-54-0	100	898.0028	-	-
Monoestearato de glicerol	Sólido	Bulk Powders	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	15249	31566-31-1	100	-	-	-
Óxido de zinco	Sólido	-	ZnO	-	1314-13-2	-	-	-	-
Parafina	Líquido	Vencilab	-	944007	8002-74-2	-	69	-	-
Polietilenoglicol 1500	Sólido	VWR International BVBA	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	15E120007	25322-68-3	-	EC-EMB 45053	1500	-
Polietilenoglicol 400	Líquido	VWR International S.A.S.	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	15B050505	25322-68-3	-	EC-EMB 45053	400	1,12
Polietilenoglicol 4000	Sólido	VWR International BVBA	H(OCH ₂ CH ₂) _n OH	12B290007	25322-68-3	-	EC-EMB 45053	4000	-
Sacarose	Sólido	Fisher Scientific	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	-	57-50-1	-	-	342,2	1,57
Albumina de Soro Bovino	Sólido	Sigma-Aldrich	-	-	9048-46-8	-	-	-	-
Vermelho de Metilo	Líquido	-	C ₁₅ H ₁₅ N ₃ O ₂	-	493-52-7	-	-	-	-

B. Fichas Técnicas da Alimentação à Base de Ração

Nesta secção encontram-se apresentadas as fichas técnicas da primeira e segunda alimentação à base de ração utilizadas durante a otimização da alimentação. A Figura B.1 apresenta a ficha técnica para a primeira alimentação à base de ração utilizada.



FICHA TÉCNICA

EUROCARACOL

Constituintes Analíticos:

Proteína Bruta	15,9 %	Celulose Bruta	2,5 %
Matéria Gorda Bruta	2,8 %	Cinza Bruta	36,4 %
Lisina	0,9 %	Metionina	0,2 %

Vitaminas (Teor/kg)

E672 Vitamina A	13.000 U.I.
E671 Vitamina D3	2.500 U.I.
E307 Vitamina E –Tocoferol	22,5 U.I.
Vitamina K3 – Menadion Bissulfato Sódico	2,5 mg
Vitamina B1 – Tiamina	1,25 mg
Vitamina B2 – Riboflavina	5 mg
Vitamina B6 – Pirodixina	1,5 mg
Vitamina B12 – Cianocobalamina	0,02 mg
Vitamina H2 – Biotina	0,03 mg
Vitamina B5 – Ácido Nicotínico	1,85 mg
Vitamina B9 – Ácido fólico	0,5 mg
Vitamina B3 – Ácido Pantoténico	8,75 mg
Cloreto de Colina - Colina	250 mg

Compostos de Oligoelementos (Teor/kg)

E1 Ferro (Sulfato ferroso heptahidratado)	40 mg
E2 Iodo (Iodeto de potássio)	1,05 mg
E3 Cobalto (Carbonato de cobalto)	0,75 mg
E4 Cobre (Sulfato de cobre)	5,26 mg
E5 Manganês (Óxido manganoso)	62,5 mg
E6 Zinco (Óxido de zinco)	75 mg
E8 Selénio (Selenito de sódio)	0,2 mg

Antioxidantes

E321 Butilhidroxitolueno (BHT)	0,4 mg
E324 Etoxiquina	1,25 mg
E310 Galato de propilo	0,4 mg

Conservantes

E331 Citrato de sódio	0,5 mg
-----------------------	--------

Suporte: Carbonato cálcio e sepiolita

Composição: Carbonato de cálcio; Bagaço de Soja 44% extratado (*); Trigo; Milho (#); Fosfato Bicálcico; Óleo e gordura vegetal de soja (*); Sal; Metionina.

(*) Milho geneticamente modificado

(*) Produzido a partir de soja geneticamente modificada

Modo de conservação: Armazenar em local seco e fresco

Modo de Emprego: Ad libitum

Apresentação: Sacos de 30 Kg

Prazo de validade: Utilizar de preferência antes de 3 meses da data de fabrico

Nº Fabricante: αPT5AA105IN

Figura B.1 – Ficha técnica da primeira alimentação à base de ração.

Na Figura B.2 encontra-se apresentada a ficha técnica da segunda alimentação à base de ração utilizada durante a otimização da alimentação.



RAÇÕES VERÍSSIMO, S. A.
IC2 – Boa Vista – 2420-399 Leiria
Tel. 244 720 630 »« Fax. 244 723 497
Fabricante Autorizado αPT 3AA071 IN

Ficha Técnica

VERICOL - H50 - Farinha

Alimento completo para Caracóis

Composição:

Milho; Bagaço de soja torrada, obtido por extracção; Carbonato de cálcio; Fosfato dibásico de cálcio; Cloreto de sódio. Contém milho e soja geneticamente modificados.

Constituintes analíticos e teores nutricionais:

Proteína bruta:	14,50%	Cinza bruta:	38,00%	Cálcio:	12,00%
Matéria gorda bruta	1,50%	Metionina:	0,26%	Fósforo:	2,40%
Fibra bruta:	3,00%	Lisina:	0,85%	Sódio:	0,13%

Modo de emprego:

Utilizar como alimento único em caracóis.

Embalagem:

Saco de papel com 25 kg.

Armazenagem:

Conservar na embalagem original, em local seco e fresco.

Validade:

Até 4 meses após a data de fabrico.


(revisto em Janeiro de 2015)

Figura B.2 – Ficha técnica da segunda alimentação à base de ração

C. Consentimento Informado, Esclarecido e Livre

O consentimento informado esclarecido e livre utilizado para interpelar a população alvo com intuito de elaboração de testes de satisfação aos produtos de cosmética, preparados durante a atividade laboratorial, apresenta-se na Figura C.1.

**CONSENTIMENTO INFORMADO, ESCLARECIDO E LIVRE PARA
QUESTIONÁRIO DE SATISFAÇÃO**

 ISEC


NOS TERMOS DA NORMA N.º 015/2013

No âmbito da Tese de Mestrado de Processos Químicos e Biológicos do Departamento de Engenharia Química e Biológica do Instituto Superior de Engenharia de Coimbra solicita-se a Vossa Excelência que realize um questionário sobre três produtos contendo baba de caracol para utilização cosmética, com intuito da sua aceitação comercial (Creme nutritivo para mãos Líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa e Creme antirrugas).

Como é apenas um teste de reconhecimento para aceitação comercial dos produtos em causa, não são conhecidos os seus efeitos benéficos/prejudiciais para a saúde. A utilização dos mesmos poderá provocar efeitos secundários na sua aplicação. Assim, **a sua utilização é expressamente proibida durante a elaboração do estudo**, comprometendo-se o participante do estudo que assinar este documento a não os utilizar sob qualquer pretexto.

A Pessoa Requerente:
Confirmo que expliquei à pessoa abaixo indicada, de forma adequada e inteligível, os procedimentos necessários ao ato referido neste documento. Respondi a todas as questões que me foram colocadas e assegurei-me de que houve um período de reflexão suficiente para a tomada da decisão. Também garanti que, em caso de recusa, serão assegurados os melhores cuidados possíveis nesse contexto, no respeito pelos seus direitos.

Nome legível do requerente: Pedro Héber Victor Rebelo

Data: Assinatura: 

Unidade: Instituto Superior de Engenharia de Coimbra Contacto institucional do requerente: 966845114

O Participante:
Por favor, leia com atenção todo o conteúdo deste documento. Não hesite em solicitar mais informações se não estiver completamente esclarecido/a. Verifique se todas as informações estão corretas. Se tudo estiver conforme, então assinie este documento.

Declaro ter compreendido os objetivos de quanto me foi proposto e explicado pelo requerente que assina este documento, ter-me sido dada oportunidade de fazer todas as perguntas sobre o assunto e para todas elas ter obtido resposta esclarecedora, ter-me sido garantido que não haverá prejuízo para os meus direitos assistenciais se eu recusar esta solicitação, e ter-me sido dado tempo suficiente para refletir sobre esta proposta.

Data: Assinatura:

Nota: Este documento é feito em duas vias - uma para o processo e outra para ficar na posse de quem consente.

Figura C.1 - Consentimento informado, esclarecido e livre para questionário de satisfação dos produtos de cosmética.

D. Questionário de Satisfação

Nesta secção apresenta-se o modelo do questionário de satisfação distribuído à população teste sobre os produtos de cosmética preparados laboratorialmente, contendo baba de caracol.

Na Figura D.1 é descrita a primeira página do questionário de satisfação distribuído.

Questionário de Satisfação

Caro Participante,

Dedique, por favor, alguns minutos do seu tempo para preencher o questionário seguinte. Assinale com uma cruz a resposta que lhe parecer mais adequada a cada questão.

Data de Nascimento: ____/____/____

A. Dados Pessoais

Sexo: ☐ Masculino
☐ Feminino

B. Questionário sobre os produtos de cosmética

1. Em termos visuais, como lhe pareceu o Creme nutritivo para mãos?
☐ Muito boa aparência.
☐ Boa aparência.
☐ Normal.
☐ Má aparência.
☐ Muito má aparência.
2. Em termos visuais, como lhe pareceu o Líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa?
☐ Muito boa aparência.
☐ Boa aparência.
☐ Normal.
☐ Má aparência.
☐ Muito má aparência.
3. Em termos visuais, como lhe pareceu o Creme antirrugas?
☐ Muito boa aparência.
☐ Boa aparência.
☐ Normal.
☐ Má aparência.
☐ Muito má aparência.
4. Como classifica a qualidade visual do Creme nutritivo para mãos comparativamente com os existentes no mercado?
☐ Muito melhor.
☐ Um pouco melhor.
☐ Quase igual.
☐ Um pouco pior.
☐ Muito pior.
5. Como classifica a qualidade visual do Líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa comparativamente com os existentes no mercado?
☐ Muito melhor.
☐ Um pouco melhor.
☐ Quase igual.
☐ Um pouco pior.
☐ Muito pior.

Por favor, continue o preenchimento do questionário no verso da folha.

Figura D.1 – Primeira página do questionário de satisfação sobre os produtos de cosmética contendo baba de caracol.

Na Figura D.2 é descrita a segunda página do questionário de satisfação distribuído, no seguimento da Figura D.1.

6. Como classifica a qualidade visual do Creme antirrugas comparativamente com os existentes no mercado?

- ☐ Muito melhor.
- ☐ Um pouco melhor.
- ☐ Quase igual.
- ☐ Um pouco pior.
- ☐ Muito pior.

7. Compraria algum produto contendo baba de caracol?

- ☐ Sim.
- ☐ Não.

Caso tenha respondido “Não” à pergunta anterior, por favor indique-nos qual a razão em particular:

8. Compraria o creme nutritivo para mãos, caso se encontrasse à venda?

- ☐ Sim.
- ☐ Não.
- ☐ Dependendo do valor comercial.

9. Compraria o Líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa, caso se encontrasse à venda?

- ☐ Sim.
- ☐ Não.
- ☐ Dependendo do valor comercial.

10. Compraria o creme antirrugas, caso se encontrasse à venda?

- ☐ Sim.
- ☐ Não.
- ☐ Dependendo do valor comercial.

Outras observações acerca dos produtos de cosmética apresentados:

Agradecemos o seu contributo

Figura D.2 – Segunda página do questionário de satisfação sobre os produtos de cosmética contendo baba de caracol.

E. Temperatura e Humidade Ambiente ao longo do Estudo

No Figura E.1 encontram-se apresentados os valores obtidos da temperatura e humidade ambiente, ao longo de todo o estudo laboratorial dos gastrópodes terrestres.

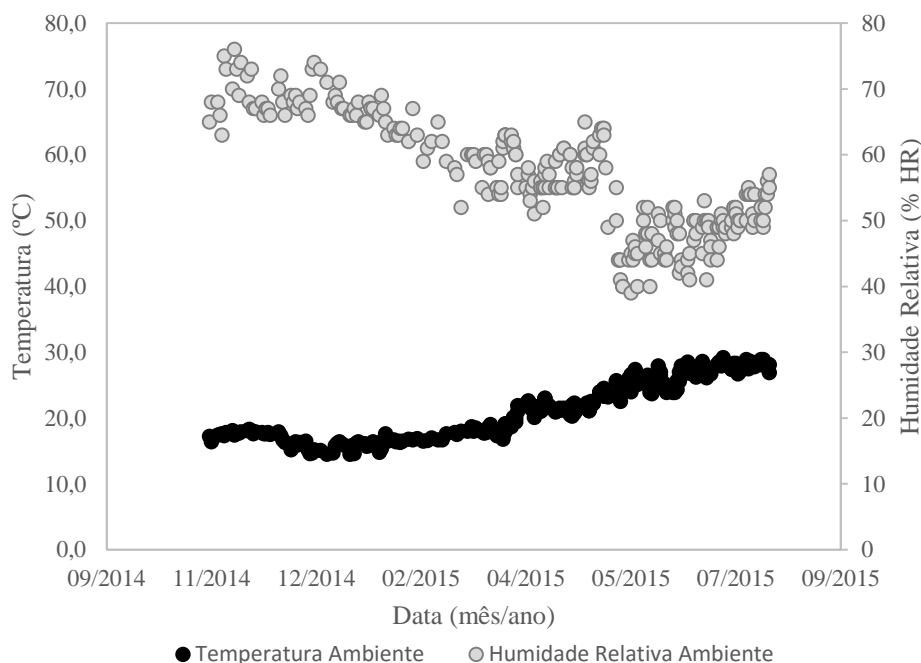


Figura E.1 – Diagrama com os valores de temperatura e humidade registados ao longo do estudo.

F. Valores da Otimização do Tempo de Extração

Nesta secção são descritos os valores para otimização do tempo de extração de baba extraída com auxílio de uma vareta de vidro (OV), por centrifugação (OC) e por sucção (OA).

Estes valores foram obtidos de minuto a minuto, ao longo de 20 minutos de extração, a cada espécime. Na Tabela F.1 são apresentados os valores complementares para três conjuntos de otimização do tempo de extração de baba realizados.

Tabela F.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração e data para os três conjuntos de otimização do tempo de extração de baba de caracol realizados.

Ensaio	Data da otimização (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial da otimização (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo inicial de retração durante a extração (s)	Tempo de produção após paragem de estímulo (s)
OV1	26/05/2015	12:09	24,6	43	32	Imediato	S.O.
OV2	26/05/2015	13:46	24,0	41	14	7	153
OV3	26/05/2015	15:05	24,0	40	73	341'	252
OV4	26/05/2015	16:42	24,0	39	13	20	S.O.
OV5	27/05/2015	14:01	24,9	44	345	237	S.O.
OV6	27/05/2015	15:58	24,9	42	Imediato	Imediato	272
OV7	27/05/2015	16:34	24,9	40	233	Imediato	S.O.
OV8	27/05/2015	19:37	24,8	40	151	Imediato	56

Tabela F.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração e data para os três conjuntos de otimização do tempo de extração de baba de caracol realizados (continuação).

Ensaio	Data da otimização (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial da otimização (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo inicial de retração durante a extração (s)	Tempo de produção após paragem de estímulo (s)
OC1	12/05/2015	12:12	22,6	61	S.O.	S.O.	S.O.
OC2	12/05/2015	12:12	22,6	61	S.O.	S.O.	S.O.
OC3	12/05/2015	12:12	22,6	61	S.O.	S.O.	S.O.
OC4	12/05/2015	12:12	22,6	61	S.O.	S.O.	S.O.
OC5	13/05/2015	14:45	22,7	65	S.O.	S.O.	S.O.
OC6	13/05/2015	14:45	22,7	65	S.O.	S.O.	S.O.
OC7	13/05/2015	14:45	22,7	65	S.O.	S.O.	S.O.
OC8	13/05/2015	14:45	22,7	65	S.O.	S.O.	S.O.
OA1	28/04/2015	11:58	20,8	60	Imediato	383	192
OA2	28/04/2015	13:55	21,1	60	Imediato	300	S.O.
OA3	28/04/2015	16:26	21,1	52	27	437	136
OA4	29/04/2015	15:50	22	57	Imediato	306	S.O.
OA5	29/04/2015	17:40	22,3	58	Imediato	137	S.O.
OA6	29/04/2015	19:37	22,3	57	Imediato	292	S.O.
OA7	30/04/2015	14:17	21,2	57	Imediato	281	S.O.
OA8	30/04/2015	15:32	21,8	58	Imediato	481	S.O.

Após cálculo das massas parciais perdidas pelo espécime, foram calculadas as massas perdidas por cada espécime pela equação seguinte.

$$\sum_{1}^n m_{\text{parcial perdida pelo espécime},n} \quad (8)$$

Em que m é a massa parcial perdida pelo espécime e n é o tempo de extração registado.

Os valores das massas perdidas por cada espécime, para três conjuntos de otimização do tempo de extração de baba de caracol, encontram-se descritos na Tabela F.2.

Tabela F.2 – Massas perdidas por espécime, para otimização do tempo de extração, de três conjuntos diferentes.

Ensaio	Tempo de extração (min.)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa perdida por cada espécime a cada minuto (g)									
OV1	0,1339	0,5903	1,0095	1,7175	1,9105	2,1296	2,2752	2,4069	2,5402	2,6761
OV2	0,3323	1,8055	2,7970	3,4545	3,7571	3,9999	4,1557	4,3383	4,4693	4,5685
OV3	0,2194	0,3599	0,4533	0,6475	0,7238	1,0762	1,1637	1,7129	2,2556	3,3855
OV4	1,1301	2,4813	3,3282	4,0948	4,6141	4,9319	5,1811	5,4326	5,6007	5,8181
OV5	0,0299	0,0566	0,0795	0,0998	0,1870	0,2690	0,3426	0,4354	0,5360	0,6782
OV6	0,0670	0,1916	0,3554	0,4060	0,6647	0,7712	0,9151	1,0782	1,1755	1,3987
OV7	0,4007	1,9639	3,0345	4,1900	4,8109	5,0814	5,2521	5,4501	5,6612	5,8008
OV8	0,0443	0,3045	0,4150	0,5194	0,6191	0,8566	1,1141	1,4242	1,7091	1,9973

Tabela F.2 – Massas perdidas por espécime, para otimização do tempo de extração, de três conjuntos diferentes (continuação).

Ensaio	Tempo de extração (min.)									
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Massa perdida por cada espécime a cada minuto (g)									
OC1	1,5507	1,4662	1,6566	2,0841	2,7447	2,9487	3,3205	3,8024	4,1782	4,3525
OC2	0,6840	0,9580	1,1713	1,4334	1,6463	1,9432	2,1123	2,3599	2,5299	2,5245
OC3	1,7911	2,6408	3,2531	3,4604	3,8403	4,5657	4,6098	4,7123	4,8872	5,3736
OC4	0,7810	1,1435	1,4585	0,4881	1,5932	1,7413	1,9047	2,1449	2,2226	2,4913
OC5	0,7993	1,0428	1,0642	1,2157	1,3554	1,3987	1,6111	1,6844	1,8429	1,8999
OC6	0,8666	2,8827	3,3009	3,5903	3,8662	4,1329	4,1729	4,2091	4,3748	4,4053
OC7	2,3906	3,2984	3,7957	4,0003	4,4432	4,9839	5,1328	5,4526	5,4759	5,5740
OC8	0,4485	0,8608	1,7686	2,8958	3,3308	3,5594	3,4125	3,4260	3,3520	3,2783
OA1	0,1590	0,7520	1,6186	2,8977	3,9869	4,5556	5,2301	5,7203	6,3608	7,0214
OA2	1,6274	2,6448	3,4745	5,1738	6,5545	7,4661	8,1187	8,3109	8,5206	8,6063
OA3	0,4037	0,8282	2,0168	3,1418	4,1442	4,8589	5,3347	5,7574	5,9953	6,2516
OA4	1,0246	2,7670	3,9960	4,6922	5,1280	5,4350	5,6755	5,8310	6,0052	6,2327
OA5	0,6865	2,4330	5,1256	6,8380	7,7961	8,3050	9,0900	9,2781	9,6633	9,7769
OA6	2,6650	5,3945	6,6131	7,4332	7,9137	8,1723	8,3301	8,4376	8,5717	8,6826
OA7	0,4104	2,2274	4,4492	7,2115	8,2151	8,7607	9,1087	9,4316	9,6430	9,7985
OA8	1,7569	3,8229	5,2871	6,3594	7,2413	7,6455	7,9675	8,2326	8,4225	8,5584
Ensaio	Tempo de extração (min.)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa perdida por cada espécime a cada minuto (g)									
OV1	2,7822	2,9283	3,0390	3,1368	3,2222	3,3130	3,3960	3,4532	3,5116	3,5961
OV2	4,6482	4,7247	4,7894	4,8379	4,8654	4,9574	5,0299	5,1143	5,1693	5,2330
OV3	4,4055	4,9355	5,5590	6,1144	6,4534	6,6607	6,8599	6,9910	7,0973	7,2131
OV4	5,9708	6,1416	6,3205	6,4767	6,6076	6,7545	6,8587	6,9646	7,0624	7,1436
OV5	0,7380	0,8365	0,9213	0,9895	1,1340	1,2897	1,4416	1,5127	1,6335	1,8607
OV6	1,8899	2,1700	2,4539	2,7116	3,1813	3,4202	3,5677	3,8419	4,0168	4,5722
OV7	5,8988	5,9812	6,1053	6,1736	6,2431	6,4874	6,6030	6,7432	6,9253	7,0526
OV8	2,3650	2,7720	3,3126	3,5558	4,5450	4,8713	5,1654	5,3345	5,6209	5,7449
OC1	4,6597	5,1265	5,3846	5,5707	5,8770	5,7624	5,9903	5,9698	6,2576	6,1305
OC2	2,6764	2,6436	2,6308	2,6393	2,6404	2,7037	2,6934	2,6821	2,6243	2,8259
OC3	5,4206	5,4103	5,4044	5,3077	5,3591	5,4534	5,4787	5,5279	5,6435	5,8177
OC4	2,6127	3,0659	2,9042	3,1746	3,3163	3,4450	4,1904	4,3814	4,3217	4,5477
OC5	1,9274	2,0757	2,1463	2,2252	2,5058	2,6575	2,7146	2,6954	2,7828	2,8684
OC6	4,4095	4,3591	4,6404	4,7954	4,8402	4,8677	4,9884	4,9104	4,9838	4,7478
OC7	5,7429	5,8273	5,9932	5,7600	5,6723	6,0398	6,0230	6,1092	6,0692	5,9897
OC8	3,3063	5,0606	5,4290	4,8094	4,8985	4,8002	4,4791	4,4890	4,3950	4,4529
OA1	7,4433	7,9425	8,2270	8,4470	8,6722	8,8614	9,0246	9,1458	9,2827	9,4359
OA2	8,7121	8,7666	8,8119	8,8430	8,8682	8,9477	8,9996	9,0251	9,0732	9,1006
OA3	6,4331	6,6070	6,7493	6,8815	7,0034	7,1072	7,2227	7,3174	7,3903	7,4537
OA4	6,3586	6,4658	6,6479	6,7599	6,8470	6,9703	7,1570	7,2592	7,3869	7,4418
OA5	9,8998	9,9888	10,0309	10,0733	10,2169	10,2769	10,3108	10,3652	10,4201	10,4801
OA6	8,7997	8,9127	9,0085	9,0702	9,1250	9,1729	9,2428	9,3177	9,3684	9,4226
OA7	9,9146	10,0215	10,1198	10,2280	10,3421	10,4668	10,5382	10,6090	10,6652	10,7111
OA8	8,6858	8,8078	8,8782	9,0001	9,0733	9,1449	9,2703	9,3685	9,5175	9,6185

Na Tabela F.3 apresentam-se os valores calculados das massas parciais de baba de caracol, obtidas durante 20 minutos, após otimização do tempo de extração de baba de caracol.

Tabela F.3 – Massas parciais de baba de caracol, após a otimização do tempo de extração de baba.

Ensaio	Tempo de extração (min.)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa parcial de baba de caracol a cada minuto (g)									
OV1	0,1481	0,4234	0,3932	0,6461	0,1629	0,1863	0,1120	0,0619	0,0841	0,0885
OV2	0,1481	0,5715	0,9647	1,6108	1,7737	1,9600	2,0720	2,1339	2,2180	2,3065
OV3	0,1659	1,4238	0,9495	0,6304	0,2765	0,2160	0,1303	0,1527	0,1010	0,0677
OV4	0,1659	1,5897	2,5392	3,1696	3,4461	3,6621	3,7924	3,9451	4,0461	4,1138
OV5	0,0065	0,1067	0,0580	0,1569	0,0400	0,3119	0,2491	0,3044	0,4821	1,0841
OV6	0,0065	0,1132	0,1712	0,3281	0,3681	0,6800	0,9291	1,2335	1,7156	2,7997
OV7	0,9686	1,3193	0,8189	0,7369	0,4943	0,2959	0,2174	0,2270	0,1449	0,1908
OV8	0,9686	2,2879	3,1068	3,8437	4,3380	4,6339	4,8513	5,0783	5,2232	5,4140
OC1	0,9106	0,0153	0,0317	0,2863	0,5669	0,0948	0,2891	0,4189	0,2954	0,0376
OC2	0,5968	0,0038	0,3839	0,1029	0,1561	0,2591	0,0267	0,2391	0,1278	0,0602
OC3	1,7609	0,7424	0,0008	0,6461	0,1969	0,6600	0,0645	0,0004	0,0084	0,3237
OC4	0,6851	0,2713	0,1475	0,0082	0,0361	0,0056	0,0525	0,0925	0,0148	0,0376
OC5	-	1,2085	0,0089	0,0601	0,0950	0,0002	0,1456	0,0173	0,0766	0,0055
OC6	0,8357	1,9405	0,3721	0,2403	0,2075	0,2208	0,0825	0,0809	0,0103	0,0019
OC7	1,6964	0,8763	0,3801	0,1311	0,3221	0,4271	0,0794	0,2478	0,0280	0,0008
OC8	0,4308	0,0052	1,2443	1,0703	0,3828	0,1689	0,0089	0,0644	0,0681	0,0097
OA1	0,0864	0,4936	0,7433	1,0335	0,7889	0,3579	0,5196	0,3366	0,5299	0,5458
OA2	1,2647	0,7971	0,7476	1,5700	1,2887	0,7997	0,5506	0,0878	0,0974	0,1771
OA3	0,1463	0,3345	1,0682	0,9583	0,8278	0,5744	0,3679	0,2785	0,1204	0,1474
OA4	0,9050	1,6353	1,1272	0,5831	0,3602	0,1858	0,1772	0,0845	0,1002	0,1607
OA5	0,6042	1,5253	2,5792	1,4549	0,8794	0,3828	0,7039	0,0958	0,2876	0,0641
OA6	2,4424	2,3712	0,9266	0,7134	0,4091	0,1777	0,0913	0,0378	0,0715	0,0441
OA7	0,3489	1,6256	1,8675	2,4985	0,8629	0,4748	0,2834	0,2465	0,1436	0,0887
OA8	1,4054	1,6647	1,2567	0,8537	0,5932	0,3067	0,2345	0,1312	0,1022	0,1576
Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa parcial de baba de caracol a cada minuto (g)									
OV1	0,0528	0,0801	0,0718	0,0557	0,0445	0,0463	0,0478	0,0234	0,0265	0,0503
OV2	0,0491	0,0486	0,0388	0,0236	0,0028	0,0672	0,0486	0,0606	0,0313	0,0361
OV3	0,9668	0,4691	0,5891	0,5173	0,3012	0,1792	0,1733	0,1045	0,0600	0,0832
OV4	0,1239	0,1045	0,1515	0,1168	0,1024	0,1232	0,0800	0,0825	0,0755	0,0518
OV5	0,0281	0,0679	0,0532	0,0355	0,1092	0,1061	0,1311	0,0428	0,0834	0,1781
OV6	0,3698	0,2161	0,2342	0,2078	0,4224	0,1913	0,0824	0,2163	0,1211	0,0176
OV7	0,0621	0,0447	0,0774	0,0275	0,0242	0,2035	0,0766	0,0730	0,1353	0,0907
OV8	0,3034	0,3638	0,4893	0,1989	0,9295	0,2824	0,2233	0,1165	0,2433	0,0772

Tabela F.3 – Massas parciais de baba de caracol, após a otimização do tempo de extração de baba (continuação).

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa parcial de baba de caracol a cada minuto (g)									
OC1	0,1437	0,2999	0,1800	0,0767	0,0046	0,0013	0,0248	0,0066	0,0060	0,0002
OC2	0,0017	0,0616	0,4603	0,0116	0,1223	0,0145	0,0362	0,0010	0,0071	0,0108
OC3	0,0064	0,1716	0,0387	0,4137	0,0071	0,0265	0,0024	0,0010	0,0001	0,0021
OC4	0,0706	0,0758	0,0381	0,0699	0,0076	0,0044	0,3011	0,0481	0,0616	0,3401
OC5	0,0336	0,0012	0,0854	0,0237	0,2193	0,1068	0,0129	0,0038	0,0093	0,0086
OC6	0,0230	0,1534	0,0166	0,0091	0,0150	0,0030	0,0160	0,0423	0,0143	0,0842
OC7	0,0609	0,0430	0,1275	0,0084	0,0135	0,0227	0,0262	0,0027	0,0095	0,0577
OC8	0,0342	0,8660	0,3239	0,0002	0,0025	0,0073	0,0042	0,0027	0,0038	0,0025
OA1	0,2561	0,3860	0,1572	0,1332	0,0691	0,1603	0,0085	0,0392	0,0025	0,0029
OA2	0,0052	0,0478	0,0492	0,0031	0,0036	0,0058	0,0081	0,0027	0,0049	0,0068
OA3	0,0750	0,0686	0,0161	0,0884	0,0542	0,0527	0,0258	0,0152	0,0334	0,0111
OA4	0,0844	0,0309	0,1757	0,0214	0,0245	0,0094	0,1082	0,0318	0,0575	0,0026
OA5	0,0148	0,0380	0,0019	0,0107	0,0421	0,0230	0,0330	0,0920	0,0003	0,0149
OA6	0,0473	0,0457	0,0353	0,0337	0,0077	0,0259	0,0197	0,0038	0,0069	0,0023
OA7	0,0564	0,0664	0,0972	0,0426	0,0514	0,0555	0,1054	0,0463	0,0375	0,0147
OA8	0,0149	0,0510	0,0211	0,0880	0,0410	0,0013	0,0358	0,0156	0,0058	0,0355

O cálculo das massas acumuladas de baba de caracol foi obtido com a soma das massas parciais para cada espécime através da seguinte equação.

$$\sum_{1}^n m_{\text{parcial de baba},n} \quad (9)$$

Em que m é a massa parcial de cada espécime e n é o tempo de extração registrado.

Na Tabela F.4 são descritos os valores calculados das massas acumuladas de baba de caracol obtidas para os três conjuntos de otimização do tempo de extração de baba de caracol.

Tabela F.4 – Massas acumuladas de baba produzida, para otimização do tempo de extração, para três conjuntos.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa acumulada de baba de caracol a cada minuto (g)									
OV1	0,1481	0,5715	0,9647	1,6108	1,7737	1,9600	2,0720	2,1339	2,2180	2,3065
OV2	0,1659	1,5897	2,5392	3,1696	3,4461	3,6621	3,7924	3,9451	4,0461	4,1138
OV3	0,0065	0,1132	0,1712	0,3281	0,3681	0,6800	0,9291	1,2335	1,7156	2,7997
OV4	0,9686	2,2879	3,1068	3,8437	4,3380	4,6339	4,8513	5,0783	5,2232	5,4140
OV5	0,0020	0,0060	0,0080	0,0097	0,0771	0,1286	0,1754	0,2355	0,3027	0,4109
OV6	0,0341	0,1237	0,2536	0,3607	0,4964	0,5704	0,6821	0,7900	0,8469	0,9982
OV7	0,3184	1,8261	2,8132	3,8858	4,4538	4,6892	4,8221	4,9690	5,1292	5,2341
OV8	0,0043	0,2018	0,2769	0,3182	0,3690	0,5589	0,7706	1,0299	1,2759	1,5175

Tabela F.4 – Massas acumuladas de baba produzida, para otimização do tempo de extração, para três conjuntos (continuação).

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa acumulada de baba de caracol a cada minuto (g)									
OC1	0,9106	0,9259	0,9576	1,2439	1,8108	1,9056	2,1947	2,6136	2,9090	2,9466
OC2	0,5968	0,6006	0,9845	1,0874	1,2435	1,5026	1,5293	1,7684	1,8962	1,9564
OC3	1,7609	2,5033	2,5041	3,1502	3,3471	4,0071	4,0716	4,0720	4,0804	4,4041
OC4	0,6851	0,9564	1,1039	1,1121	1,1482	1,1538	1,2063	1,2988	1,3136	1,3512
OC5	0,0000	1,2085	1,2174	1,2775	1,3725	1,3727	1,5183	1,5356	1,6122	1,6177
OC6	0,8357	2,7762	3,1483	3,3886	3,5961	3,8169	3,8994	3,9803	3,9906	3,9925
OC7	1,6964	2,5727	2,9528	3,0839	3,4060	3,8331	3,9125	4,1603	4,1883	4,1891
OC8	0,4308	0,4360	1,6803	2,7506	3,1334	3,3023	3,3112	3,3756	3,4437	3,4534
OA1	0,0864	0,5800	1,3233	2,3568	3,1457	3,5036	4,0232	4,3598	4,8897	5,4355
OA2	1,2647	2,0618	2,8094	4,3794	5,6681	6,4678	7,0184	7,1062	7,2036	7,3807
OA3	0,1463	0,4808	1,5490	2,5073	3,3351	3,9095	4,2774	4,5559	4,6763	4,8237
OA4	0,9050	2,5403	3,6675	4,2506	4,6108	4,7966	4,9738	5,0583	5,1585	5,3192
OA5	0,6042	2,1295	4,7087	6,1636	7,0430	7,4258	8,1297	8,2255	8,5131	8,5772
OA6	2,4424	4,8136	5,7402	6,4536	6,8627	7,0404	7,1317	7,1695	7,2410	7,2851
OA7	0,3489	1,9745	3,8420	6,3405	7,2034	7,6782	7,9616	8,2081	8,3517	8,4404
OA8	1,4054	3,0701	4,3268	5,1805	5,7737	6,0804	6,3149	6,4461	6,5483	6,7059
Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa acumulada de baba de caracol a cada minuto (g)									
OV1	2,3593	2,4394	2,5112	2,5669	2,6114	2,6577	2,7055	2,7289	2,7554	2,8057
OV2	4,1629	4,2115	4,2503	4,2739	4,2767	4,3439	4,3925	4,4531	4,4844	4,5205
OV3	3,7665	4,2356	4,8247	5,3420	5,6432	5,8224	5,9957	6,1002	6,1602	6,2434
OV4	5,5379	5,6424	5,7939	5,9107	6,0131	6,1363	6,2163	6,2988	6,3743	6,4261
OV5	0,4390	0,5069	0,5601	0,5956	0,7048	0,8109	0,9420	0,9848	1,0682	1,2463
OV6	1,3680	1,5841	1,8183	2,0261	2,4485	2,6398	2,7222	2,9385	3,0596	3,0772
OV7	5,2962	5,3409	5,4183	5,4458	5,4700	5,6735	5,7501	5,8231	5,9584	6,0491
OV8	1,8209	2,1847	2,6740	2,8729	3,8024	4,0848	4,3081	4,4246	4,6679	4,7451
OC1	3,0903	3,3902	3,5702	3,6469	3,6515	3,6528	3,6776	3,6842	3,6902	3,6904
OC2	1,9581	2,0197	2,4800	2,4916	2,6139	2,6284	2,6646	2,6656	2,6727	2,6835
OC3	4,4105	4,5821	4,6208	5,0345	5,0416	5,0681	5,0705	5,0715	5,0716	5,0737
OC4	1,4218	1,4976	1,5357	1,6056	1,6132	1,6176	1,9187	1,9668	2,0284	2,3685
OC5	1,6513	1,6525	1,7379	1,7616	1,9809	2,0877	2,1006	2,1044	2,1137	2,1223
OC6	4,0155	4,1689	4,1855	4,1946	4,2096	4,2126	4,2286	4,2709	4,2852	4,3694
OC7	4,2500	4,2930	4,4205	4,4289	4,4424	4,4651	4,4913	4,4940	4,5035	4,5612
OC8	3,4876	4,3536	4,6775	4,6777	4,6802	4,6875	4,6917	4,6944	4,6982	4,7007
OA1	5,6916	6,0776	6,2348	6,3680	6,4371	6,5974	6,6059	6,6451	6,6476	6,6505
OA2	7,3859	7,4337	7,4829	7,4860	7,4896	7,4954	7,5035	7,5062	7,5111	7,5179
OA3	4,8987	4,9673	4,9834	5,0718	5,1260	5,1787	5,2045	5,2197	5,2531	5,2642
OA4	5,4036	5,4345	5,6102	5,6316	5,6561	5,6655	5,7737	5,8055	5,8630	5,8656
OA5	8,5920	8,6300	8,6319	8,6426	8,6847	8,7077	8,7407	8,8327	8,8330	8,8479
OA6	7,3324	7,3781	7,4134	7,4471	7,4548	7,4807	7,5004	7,5042	7,5111	7,5134
OA7	8,4968	8,5632	8,6604	8,7030	8,7544	8,8099	8,9153	8,9616	8,9991	9,0138
OA8	6,7208	6,7718	6,7929	6,8809	6,9219	6,9232	6,9590	6,9746	6,9804	7,0159

Na Tabela F.5 apresentam-se as diferenças entre os valores de massa perdida pelo espécime e os valores de massa acumulada de baba produzida, para os três conjuntos de ensaios realizados durante a otimização do tempo de extração de baba de caracol.

Tabela F.5 – Diferença entre os valores de massa perdida pelo espécime e os valores de massa acumulada de baba produzida, para os quatro conjuntos de ensaios realizados durante a otimização do tempo de extração de baba.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Diferença entre a massa perdida pelo espécime e a massa acumulada de baba produzida a cada minuto (g)									
OV1	-0,0142	0,0188	0,0448	0,1067	0,1368	0,1696	0,2032	0,2730	0,3222	0,3696
OV2	0,1664	0,2158	0,2578	0,2849	0,3110	0,3378	0,3633	0,3932	0,4232	0,4547
OV3	0,2129	0,2467	0,2821	0,3194	0,3557	0,3962	0,2346	0,4794	0,5400	0,5858
OV4	0,1615	0,1934	0,2214	0,2511	0,2761	0,2980	0,3298	0,3543	0,3775	0,4041
OV5	0,0279	0,0506	0,0715	0,0901	0,1099	0,1404	0,1672	0,1999	0,2333	0,2673
OV6	0,0329	0,0679	0,1018	0,0453	0,1683	0,2008	0,2330	0,2882	0,3286	0,4005
OV7	0,0823	0,1378	0,2213	0,3042	0,3571	0,3922	0,4300	0,4811	0,5320	0,5667
OV8	0,0400	0,1027	0,1381	0,2012	0,2501	0,2977	0,3435	0,3943	0,4332	0,4798
OC1	0,6401	0,5403	0,6990	0,8402	0,9339	1,0431	1,1258	1,1888	1,2692	1,4059
OC2	0,0872	0,3574	0,1868	0,3460	0,4028	0,4406	0,5830	0,5915	0,6337	0,5681
OC3	0,0302	0,1375	0,7490	0,3102	0,4932	0,5586	0,5382	0,6403	0,8068	0,9695
OC4	0,0959	0,1871	0,3546	-0,6240	0,4450	0,5875	0,6984	0,8461	0,9090	1,1401
OC5	0,7993	-0,1657	-0,1532	-0,0618	-0,0171	0,0260	0,0928	0,1488	0,2307	0,2822
OC6	0,0309	0,1065	0,1526	0,2017	0,2701	0,3160	0,2735	0,2288	0,3842	0,4128
OC7	0,6942	0,7257	0,8429	0,9164	1,0372	1,1508	1,2203	1,2923	1,2876	1,3849
OC8	0,0177	0,4248	0,0883	0,1452	0,1974	0,2571	0,1013	0,0504	-0,0917	-0,1751
OA1	0,0726	0,1720	0,2953	0,5409	0,8412	1,0520	1,2069	1,3605	1,4711	1,5859
OA2	0,3627	0,5830	0,6651	0,7944	0,8864	0,9983	1,1003	1,2047	1,3170	1,2256
OA3	0,2574	0,3474	0,4678	0,6345	0,8091	0,9494	1,0573	1,2015	1,3190	1,4279
OA4	0,1196	0,2267	0,3285	0,4416	0,5172	0,6384	0,7017	0,7727	0,8467	0,9135
OA5	0,0823	0,3035	0,4169	0,6744	0,7531	0,8792	0,9603	1,0526	1,1502	1,1997
OA6	0,2226	0,5809	0,8729	0,9796	1,0510	1,1319	1,1984	1,2681	1,3307	1,3975
OA7	0,0615	0,2529	0,6072	0,8710	1,0117	1,0825	1,1471	1,2235	1,2913	1,3581
OA8	0,3515	0,7528	0,9603	1,1789	1,4676	1,5651	1,6526	1,7865	1,8742	1,8525
Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Diferença entre a massa perdida pelo espécime e a massa acumulada de baba produzida a cada minuto (g)									
OV1	0,4229	0,4889	0,5278	0,5699	0,6108	0,6553	0,6905	0,7243	0,7562	0,7904
OV2	0,4853	0,5132	0,5391	0,5640	0,5887	0,6135	0,6374	0,6612	0,6849	0,7125
OV3	0,6390	0,6999	0,7343	0,7724	0,8102	0,8383	0,8642	0,8908	0,9371	0,9697
OV4	0,4329	0,4992	0,5266	0,5660	0,5945	0,6182	0,6424	0,6658	0,6881	0,7175
OV5	0,2990	0,3296	0,3612	0,3939	0,4292	0,4788	0,4996	0,5279	0,5653	0,6144
OV6	0,5219	0,5859	0,6356	0,6855	0,7328	0,7804	0,8455	0,9034	0,9572	1,4950
OV7	0,6026	0,6403	0,6870	0,7278	0,7731	0,8139	0,8529	0,9201	0,9669	1,0035
OV8	0,5441	0,5873	0,6386	0,6829	0,7426	0,7865	0,8573	0,9099	0,9530	0,9998
OC1	1,5694	1,7363	1,8144	1,9238	2,2255	2,1096	2,3127	2,2856	2,5674	2,4401
OC2	0,7183	0,6239	0,1508	0,1477	0,0265	0,0753	0,0288	0,0165	-0,0484	0,1424
OC3	1,0101	0,8282	0,7836	0,2732	0,3175	0,3853	0,4082	0,4564	0,5719	0,7440
OC4	1,1909	1,5683	1,3685	1,5690	1,7031	1,8274	2,2717	2,4146	2,2933	2,1792
OC5	0,2761	0,4232	0,4084	0,4636	0,5249	0,5698	0,6140	0,5910	0,6691	0,7461
OC6	0,3940	0,1902	0,4549	0,6008	0,6306	0,6551	0,7598	0,6395	0,6986	0,3784
OC7	1,4929	1,5343	1,5727	1,3311	1,2299	1,5747	1,5317	1,6152	1,5657	1,4285
OC8	-0,1813	0,7070	0,7515	0,1317	0,2183	0,1127	-0,2126	-0,2054	-0,3032	-0,2478

Tabela F.5 – Diferença entre os valores de massa perdida pelo espécime e os valores de massa acumulada de baba produzida, para os quatro conjuntos de ensaios realizados durante a otimização do tempo de extração de baba (continuação).

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Diferença entre a massa perdida pelo espécime e a massa acumulada de baba produzida a cada minuto (g)									
OA1	1,7517	1,8649	1,9922	2,0790	2,2351	2,2640	2,4187	2,5007	2,6351	2,7854
OA2	1,3262	1,3329	1,3290	1,3570	1,3786	1,4523	1,4961	1,5189	1,5621	1,5827
OA3	1,5344	1,6397	1,7659	1,8097	1,8774	1,9285	2,0182	2,0977	2,1372	2,1895
OA4	0,9550	1,0313	1,0377	1,1283	1,1909	1,3048	1,3833	1,4537	1,5239	1,5762
OA5	1,3078	1,3588	1,3990	1,4307	1,5322	1,5692	1,5701	1,5325	1,5871	1,6322
OA6	1,4673	1,5346	1,5951	1,6231	1,6702	1,6922	1,7424	1,8135	1,8573	1,9092
OA7	1,4178	1,4583	1,4594	1,5250	1,5877	1,6569	1,6229	1,6474	1,6661	1,6973
OA8	1,9650	2,0360	2,0853	2,1192	2,1514	2,2217	2,3113	2,3939	2,5371	2,6026

Diagramas de otimização do tempo de extração, com uma vareta de vidro

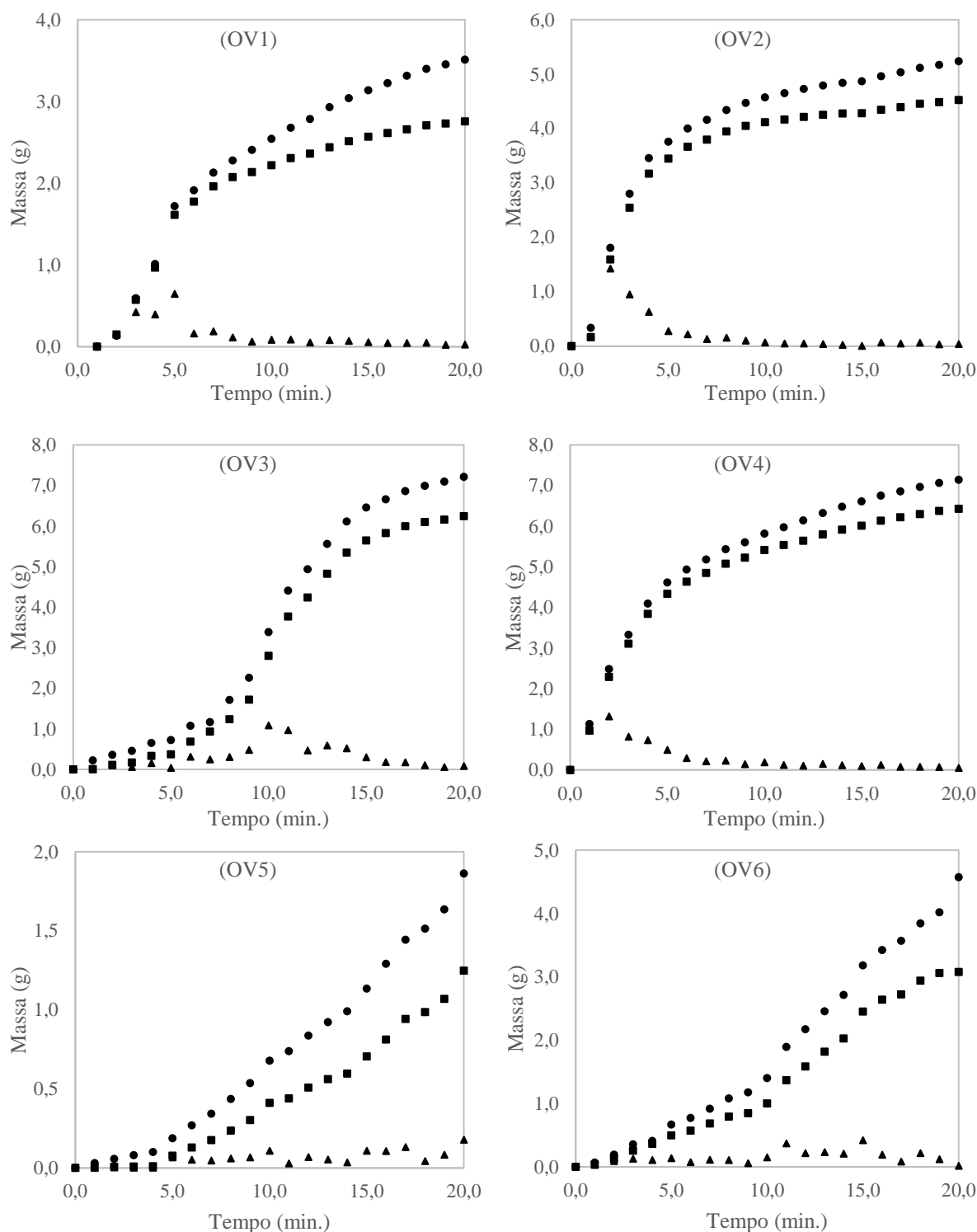
Seguidamente apresentam-se os diagramas dos valores de massa perdida pelo espécime, massas parciais e as massas acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração de baba de caracol, através dos valores descritos na Tabela F.2 na Tabela F.3, na Tabela F.4.

Os valores das massas perdidas pelo espécime, massas parciais e massas acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para o ensaio denominado por (OV1), podem ser visionados na Figura F.1. Pela análise gráfica, denota-se que as funções de massa acumulada de baba produzida e de massa perdida pelo espécime apresentam um maior crescimento numa fase inicial, tendendo para um declive constante para valores finais. É exceção a esse comportamento os diagramas relativos aos ensaios (OV5) e (OV6) que não tendem para a linearidade, nos valores finais das funções acumuladas.

Não é possível, assim, verificar, para esses ensaios, o decréscimo no incremento dos valores de massa acumulada de baba produzida nem o minuto de estagnação na produção de baba de caracol. Para estes ensaios, o caracol poderia requerer de mais tempo de extração, sendo, provavelmente, apenas apresentadas nos diagramas a fase inicial de produção de baba. Nos diagramas dos ensaios (OV3) e (OV8) verifica-se que a fase inicial é muito superior aos outros diagramas apresentados, demonstrando, assim, que o caracol necessita um tempo de produção de baba mais alargado, com o processo de extração a que foi induzido.

Os maiores valores de produção de baba obtida a cada minuto, para cada ensaio, correspondendo ao máximo valor da função de massa parcial de baba produzida por tempo de extração, ocorreram no 4º minuto de extração para os ensaios (OV1) e (OV7), no 3º minuto para o ensaio (OV2), no 12º minuto para o ensaio (OV3), no 2º minuto para o ensaio (OV4), no 20º minuto para o ensaio (OV5) e no 15º minuto para os ensaios (OV6) e (OV8). Os tempos ótimos foram considerados pelo decréscimo no incremento dos valores de massa acumulada de baba produzida, correspondendo ao último valor de produção significativa de massa parcial de baba produzida, ou o primeiro valor onde a função apresenta um declive constante, apresentando linearidade para valores superiores ao estipulado. Estes valores foram ainda estimados tendo em consideração as diferenças entre a massa perdida pelo espécime e a massa acumulada de baba produzida, com os valores descritos na Tabela F.5.

Foi, assim, considerado válido que os tempos ótimos de extração seriam o 7º minuto para o ensaio (OV1), o 9º minuto para o ensaio (OV2), o 17º minuto para o ensaio (OV3), o 8º minuto para o ensaio (OV4), o 15º minuto para o ensaio (OV6), o 6º minuto para o ensaio (OV7) e o 16º minuto para o ensaio (OV8).



▲ Massa parcial de baba produzida ■ Massa acumulada de baba produzida ● Massa perdida pelo espécime

Figura F.1 – Diagrama das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios de otimização com vareta de vidro, para os ensaios de (OV1) a (OV8).

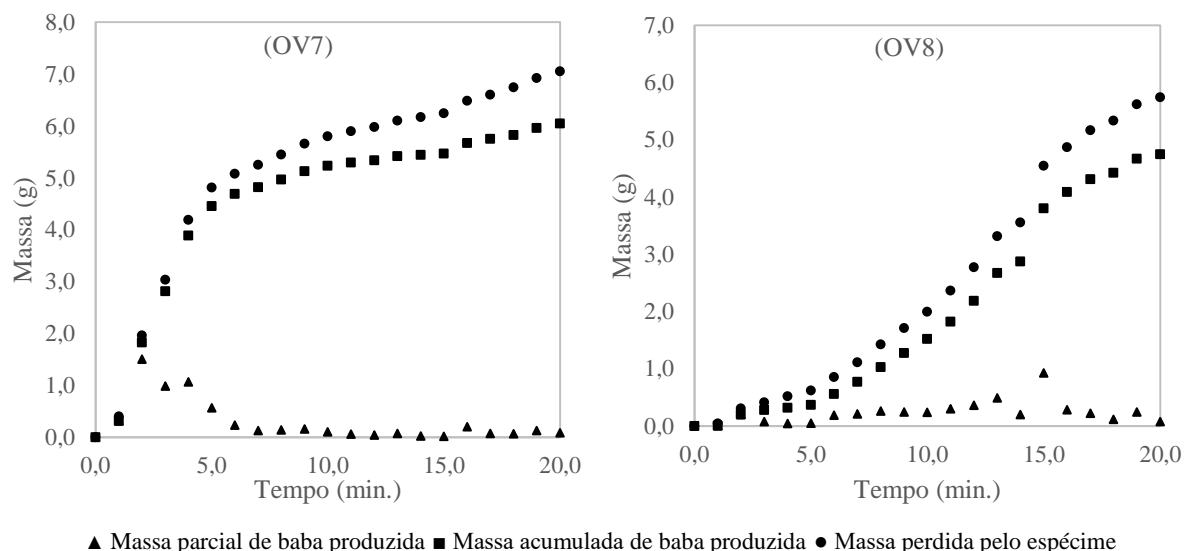


Figura F.1 – Diagrama das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios de otimização com vareta de vidro, para os ensaios de (OV1) a (OV8) (continuação).

Denota-se, no ensaio (OV8), que o caracol apresenta a maior fase inicial de produção de baba, face aos restantes ensaios realizados, levando cerca de 6 minutos para dar início a uma fase efetiva de produção de baba. Verifica-se, ainda, que para o mesmo ensaio, existe um aumento significativo de produção de baba de caracol ao décimo quinto minuto de extração, aumento esse não verificado nos restantes ensaios realizados, aos restantes caracóis estudados.

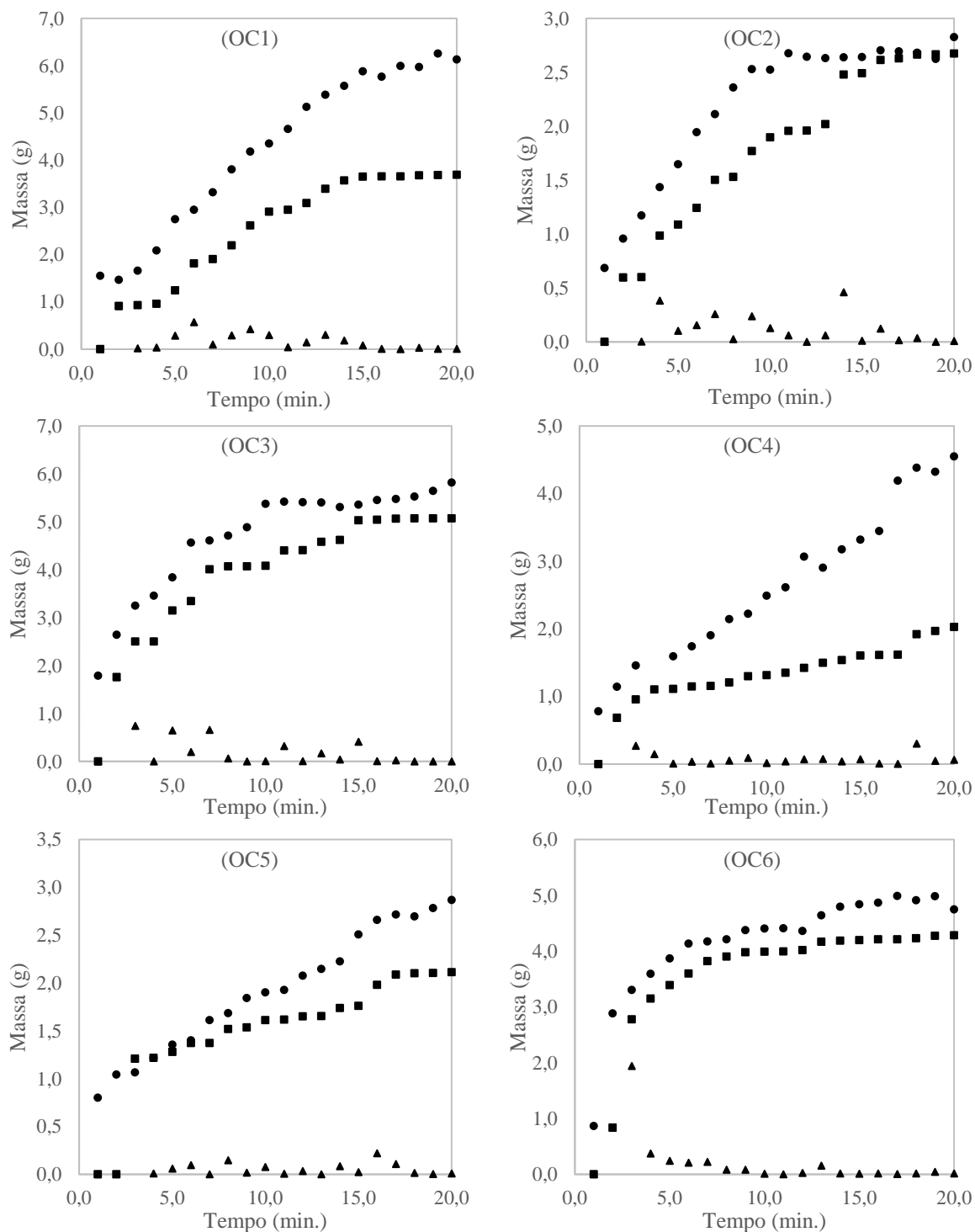
Diagramas de otimização do tempo de extração, por centrifugação

Nesta secção apresentam-se os diagramas de massas parciais e acumuladas de baba produzida e os valores de massa perdida pelo espécime em função do tempo de extração, através dos valores descritos na Tabela F.2 na Tabela F.3, na Tabela F.4, referentes aos ensaios obtidos para otimização do tempo de extração de baba por centrifugação, denominados por (OC). Os valores das massas parciais e massas acumuladas de baba de caracol produzida e os valores de massa perdida por cada espécime estudado, em função do tempo de extração, para os ensaios de otimização do tempo de extração, pela metodologia referida, apresentam-se na Figura F.2.

Nos diagramas referentes aos ensaios (OC1) e (OC2) verifica-se que a fase inicial de produção de baba é muito superior à fase inicial dos restantes diagramas apresentados nesta secção, demonstrando que o caracol apresenta um maior tempo inicial de produção de baba. Os ensaios demonstram que os caracóis submetidos a este processo de extração apresentaram diagramas com diferentes picos de produção de baba ao longo do tempo, observados na função de massa parcial produzida por tempo de extração, descrevendo uma proximidade a uma função oscilatória, com exceção dos diagramas relativos aos ensaios (OC4), (OC6) e (OC7).

O máximo de massa parcial de baba produzida, para cada minuto e para cada ensaio, ocorreram no 1º minuto de extração para os ensaios (OC1), (OC2), (OC3), (OC4) e (OC7), no 2º minuto para o ensaio (OC5) e no 3º minuto para os ensaios (OC6) e (OC8).

Os tempos ótimos foram determinados de acordo com o método já descrito. Considerou-se um tempo ótimo de 14 minutos para os ensaios (OC1) e (OC8), de 16 minutos para o ensaio (OC2), de 15 minutos para o ensaio (OC3), de 4 minutos para o ensaio (OC4), de 17 minutos para o ensaio (OC5), de 7 minutos para o ensaio (OC6) e de 9 minutos para o ensaio (OC7).



▲ Massa parcial de baba produzida ■ Massa acumulada de baba produzida ● Massa perdida pelo espécime

Figura F.2 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração por centrifugação, relativos aos ensaios descritos por (OC1) a (OC8).

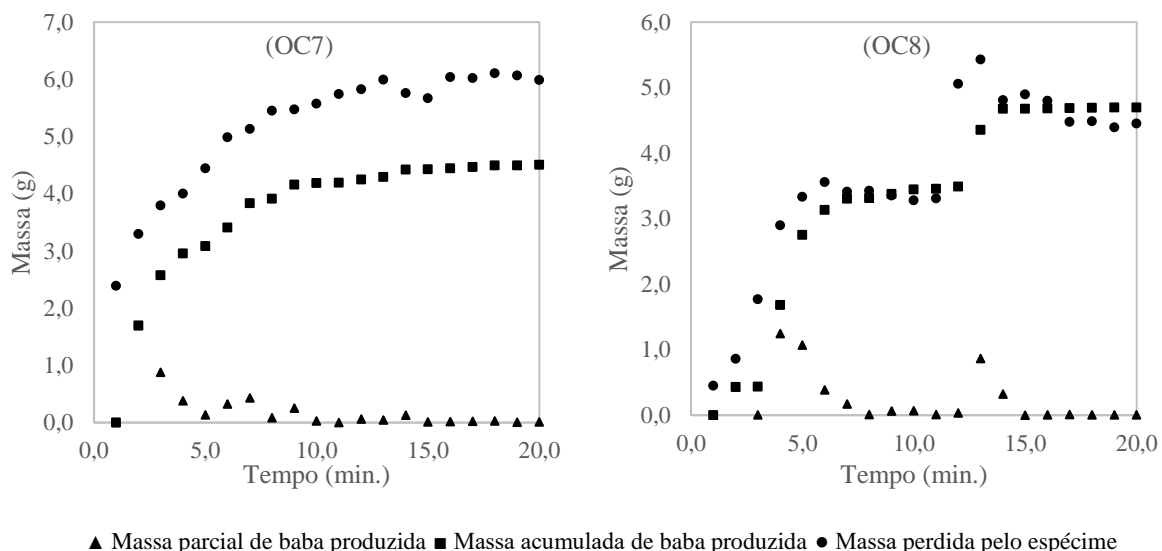


Figura F.2 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida e em função do tempo de extração por centrifugação, relativos aos ensaios descritos por (OC1) a (OC8).(continuação).

Na consideração do tempo ótimo para o ensaio (OC4), não foram ponderados os valores para o tempo de 18 minutos e de 20 minutos, já que para esses tempos a massa acumulada de baba produzida não compensava a massa perdida pelo espécime, sendo o valor da diferença entre as massas muito elevado, tal como apresentado na Tabela F.5.

No ensaio (OC6) foi descartado o valor de massa parcial de baba produzida de 13 minutos, pela mesma razão. Apesar de existir uma diferença significativa entre a massa perdida pelo espécime e a massa acumulada de baba produzida, existe uma diminuição dessa diferença verificada para os tempos de extração finais realizados durante o ensaio (OC2).

No ensaio (OC4) não foi representada a massa perdida pelo espécime para o quarto minuto de extração, pois o valor apresentava-se muito abaixo da massa acumulada de baba produzida, sendo impossível o espécime apresentar um ganho de massa tao acentuado.

No ensaio (OC3), apesar de existir uma diferença significativa entre a massa perdida pelo espécime e a massa acumulada de baba produzida, existe uma diminuição dessa diferença verificada desde os 11 minutos até aos 15 minutos de extração, aumentando a perda de massa do espécime para tempos superiores até ao final da extração realizada.

Estes ganhos de massa dos espécimes referidos podem estar relacionados com uma adaptação do caracol ao estímulo provocado, ou com o facto da realização laboratorial do processo de extração por centrifugação não permitir a separação completa entre o espécime e a baba, podendo o mesmo apresentar um aumento de massa corporal aparente, pelo aprisionamento da baba aquando das pesagens realizadas, repercutindo-se esse ganho nos diagramas apresentados.

No ensaio (OC8) verificou-se que existe claramente um ponto de inflexão na produção de massa acumulada de baba após uma primeira estabilização da produção. Este facto pode estar associado a uma adaptação do caracol ao *stress* induzido entre os 7 e 12 minutos, tendo o caracol produzido baba em duas fases ao longo da extração.

Diagramas de otimização do tempo de extração, por sucção

Os diagramas da Figura F.3 descrevem a massa parcial de baba, a massa acumulada de baba e os valores de massa perdida pelo espécime em função do tempo de extração, para o processo de extração de baba por sucção, para os ensaios denominados por (OA1) a (OA8).

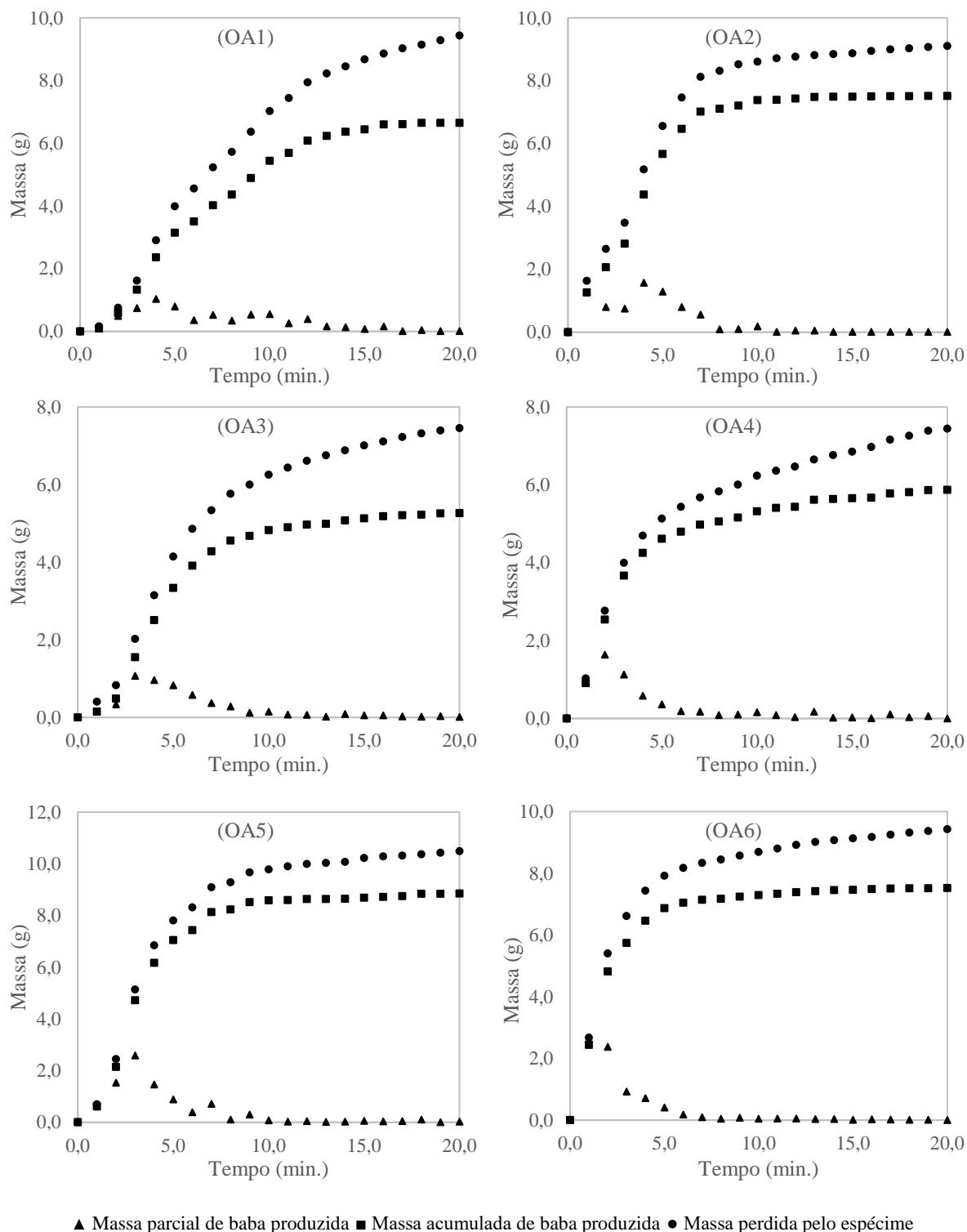


Figura F.3 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios denominados por (OA1) a (OA8).

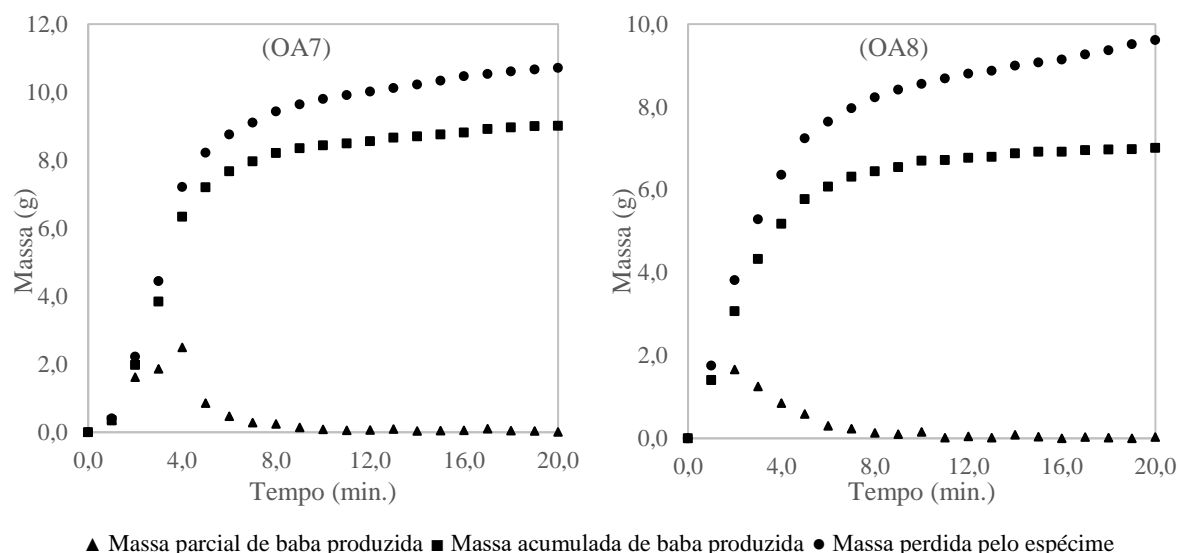


Figura F.3 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios denominados por (OA1) a (OA8) (continuação).

Verifica-se que as fases iniciais descrevem um maior declive, comparativamente com os métodos anteriores, definindo que o caracol atinge o tempo ótimo de produção de baba, para menores tempos de extração. O valor máximo de produção de baba obtida a cada minuto de extração, para cada ensaio realizado, ocorreram no 4º minuto de extração para os ensaios (OA1), (OA2) e (OA7), no 3º minuto para os ensaios (OA3) e (OA5), no 2º minuto para os ensaios (OA4) e (OA8) e no 1º minuto para o ensaio (OA6). Tal como nos métodos de otimização do tempo de extração realizados anteriormente, os tempos ótimos foram considerados pelo decréscimo no incremento dos valores de massa acumulada de baba produzida, correspondendo ao último valor de produção significativa de massa parcial de baba produzida, visto que para valores superiores existe um declive constante, apresentando linearidade entre os mesmos.

Foram considerados como tempo ótimo, o 12º minuto para o ensaio (OA1), o 7º minuto para os ensaios (OA2), (OA4) e (OA8), o 8º minuto para os ensaios (OA3) e (OA7), o 9º minuto para o ensaio (OA5) e o 6º minuto para o ensaio (OA6).

G. Otimização do Tempo de Extração de Baba por Sucção com Administração de Água Destilada, durante o Processo de Extração

Nesta secção descrevem-se os valores obtidos durante a otimização do tempo de extração de baba por sucção com adição de água destilada durante o processo de extração. Esses ensaios foram realizados a oito espécimes, de minuto a minuto, ao longo de 20 minutos de extração.

Na Tabela G.1 apresentam-se os valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração e data da otimização do tempo de extração de baba por sucção de cada espécime, com adição de água destilada durante o processo de extração.

De referir que, como o início da atividade de todos os espécimes após a extração da baba foi imediato, não foi observado o tempo de produção de baba após paragem de estímulo, revelando que, apesar de se tratar de um processo que causa *stress* ao gastrópode, não existe uma perturbação tão acentuada como verificado nos restantes processos de extração realizados.

Tabela G.1 - Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração e data da otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção de cada espécime com adição de água destilada durante o processo de extração.

Ensaio	Data da otimização (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial da otimização (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo de retração durante a extração (s)	Tempo de produção após paragem de estímulo (s)
OAH1	16/06/2015	13:30	26,4	45	Imediato	126	S.O.
OAH2	16/06/2015	14:54	26,4	43	Imediato	73	S.O.
OAH3	16/06/2015	16:27	26,1	43	Imediato	372	S.O.
OAH4	16/06/2015	18:06	26,1	43	Imediato	431	S.O.
OAH5	17/06/2015	14:34	26,1	43	Imediato	218	S.O.
OAH6	17/06/2015	16:00	26,1	42	Imediato	193	S.O.
OAH7	17/06/2015	18:04	26,4	41	Imediato	529	S.O.
OAH8	17/06/2015	20:09	26,4	40	Imediato	325	S.O.

Na Tabela G.2 apresentam-se os valores registados para os volumes de água destilada adicionada, a cada minuto, em cada ensaio realizado, para a otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção dos espécimes estudados, com administração de água destilada.

Tabela G.2 – Valores obtidos para os volumes de água destilada adicionada a cada minuto da otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção de cada espécime, com administração de água destilada, durante o processo de extração.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Volume de água destilada adicionada durante o processo de extração, a cada minuto (mL)									
OAH1	0,5	1,3	0,5	1,1	0,5	0,3	0,2	0,7	0,9	0,6
OAH2	1,2	0,7	1,3	0,4	0,7	0,2	0,5	0,8	0,5	1,0
OAH3	1,0	0,9	0,5	0,3	0,3	0,5	0,3	0,4	0,5	0,4
OAH4	0,6	0,5	0,9	0,5	0,5	0,8	0,4	0,8	0,5	0,1
OAH5	0,6	0,3	0,6	0,8	0,3	0,7	0,5	0,5	0,5	0,6
OAH6	1,4	0,6	0,8	1,1	1,0	0,5	0,7	0,5	0,5	1,0
OAH7	0,8	1,3	1,2	0,3	0,4	0,5	0,7	0,7	0,6	0,5
OAH8	0,4	1,0	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,7	0,5	0,9
Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Volume de água destilada adicionada durante o processo de extração, a cada minuto (mL)									
OAH1	0,8	1,3	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5	1,0	0,6	0,8
OAH2	0,4	0,6	0,6	0,5	0,6	0,4	0,4	0,5	0,6	0,7
OAH3	0,6	0,5	0,2	0,4	1,0	0,4	0,8	0,6	1,2	0,6
OAH4	0,5	0,7	0,5	0,8	1,0	0,8	0,5	0,9	0,3	0,5
OAH5	0,5	0,9	0,6	0,7	0,6	0,6	0,6	0,4	0,8	0,7
OAH6	0,3	0,5	0,7	0,2	0,5	0,4	0,7	0,8	0,6	0,2
OAH7	0,8	0,3	0,8	0,8	0,4	0,7	0,3	0,4	0,4	0,6
OAH8	0,5	0,4	0,9	0,4	0,5	0,5	0,7	0,5	0,6	0,5

Os volumes de água destilada foram adicionados a cada espécime, tendo por base a água necessária para a hidratação do espécime durante a extração. O caudal de água necessária para hidratação do espécime foi determinado pelo processo de secagem da baba, obtendo um valor de 0,4 mL/min.. Os valores das massas perdidas por cada espécime obtidos durante a otimização do tempo de extração da baba de caracol por sucção, com administração de água destilada a cada espécime, durante o processo de extração, são descritos na Tabela G.3.

Tabela G.3 – Valores das massas perdidas por cada espécime em cada ensaio realizado para otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção, com adição de água destilada a cada espécime, durante o processo de extração.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa perdida por cada espécime a cada minuto (g)									
OAH1	0,2566	1,9662	2,4722	2,7799	2,9212	2,9762	3,0161	2,9949	3,1025	3,0967
OAH2	0,0927	0,6073	2,9821	3,6241	3,8770	4,0478	4,0969	4,1941	4,2236	4,3725
OAH3	0,0922	0,1875	1,6001	2,6623	3,2452	4,4585	4,5348	5,3011	4,7252	4,8325
OAH4	1,1445	1,9244	2,7898	3,0886	3,1499	3,4340	3,7099	3,7669	3,8161	3,9723
OAH5	0,7802	1,9215	2,1140	2,1573	2,3106	2,2901	2,3382	2,3308	2,3656	2,3773
OAH6	0,6813	0,9566	1,1226	1,2118	1,3140	1,3761	1,4358	1,4889	1,5519	1,5605
OAH7	1,1870	1,5799	1,6029	1,7044	1,8014	1,8556	1,9791	2,0534	1,9604	1,9498
OAH8	0,9038	1,1343	1,2003	1,1958	1,2226	1,2211	1,2031	1,2684	1,3044	1,2971
Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa perdida por cada espécime a cada minuto (g)									
OAH1	3,1173	3,1720	3,1617	3,1553	3,2502	3,2950	3,2727	3,3231	3,3002	3,2644
OAH2	4,4240	4,4944	4,4937	4,5431	4,5088	4,5552	4,5620	4,6412	4,6683	4,6610
OAH3	4,8814	4,9287	5,1531	5,1712	5,0753	5,1145	5,1114	5,1457	5,0824	5,1246
OAH4	3,9845	4,4210	4,3922	4,4186	4,4440	4,3565	4,3022	4,3247	4,3199	4,4082
OAH5	2,4099	2,4600	2,4672	2,4705	2,4777	2,4734	2,4870	2,5077	2,5003	2,4847
OAH6	1,5672	1,7571	1,7194	1,7644	1,7558	1,8014	1,8023	1,8370	1,8570	1,8857
OAH7	1,8391	2,0848	1,9834	2,0343	2,0618	1,9605	2,0198	2,4198	2,4575	2,4072
OAH8	1,3442	1,5336	1,5332	1,5909	1,5839	1,5831	1,6034	1,6310	1,6295	1,6670

As massas acumuladas de baba produzida foram calculadas segundo a equação (10).

$$\sum_{1}^n m_{\text{parcial perdida pelo espécime},n} \quad (10)$$

Em que m é a massa parcial perdida pelo espécime e n é o tempo de extração registado.

O cálculo das massas acumuladas de baba de caracol foi obtido com a soma das massas parciais para cada espécime pela da seguinte equação.

$$\sum_{1}^n m_{\text{parcial de baba},n} \quad (11)$$

Em que m é a massa parcial e n é o tempo de extração registado.

Na Tabela G.4 apresentam-se os valores das massas parciais de baba produzida, pela otimização do tempo de extração por sucção de cada espécime estudado com adição de água destilada.

Tabela G.4 – Valores calculados das massas parciais de baba de caracol, após a otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção de cada espécime, com adição de água destilada durante o processo.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa parcial de baba produzida por cada espécime a cada minuto (g)									
OAH1	0,3531	2,1848	0,5166	0,5355	0,1302	0,0469	0,0151	0,1794	0,3347	0,0593
OAH2	0,5056	0,6935	2,8007	0,6272	0,3331	0,1059	0,1698	0,2614	0,0417	0,4502
OAH3	0,4295	0,3273	1,4458	1,0617	0,5384	1,1117	0,1052	0,0542	0,0500	0,1290
OAH4	1,3607	0,7710	1,1096	0,3673	0,1203	0,5165	0,3105	0,2131	0,1463	0,0123
OAH5	0,9404	1,1201	0,3228	0,1647	0,0977	0,1457	0,1841	0,0392	0,0927	0,0773
OAH6	1,1399	0,3394	0,3400	0,3688	0,3576	0,0736	0,2349	0,1659	0,1505	0,0782
OAH7	1,3523	0,7969	0,3192	0,1054	0,1031	0,0891	0,1269	0,2307	0,0595	0,0531
OAH8	0,9485	0,4579	0,1811	0,1185	0,1503	0,0791	0,0513	0,2129	0,1080	0,2036

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa parcial de baba produzida por cada espécime a cada minuto (g)									
OAH1	0,1710	0,4656	0,1280	0,1029	0,1068	0,0737	0,1144	0,2321	0,0972	0,1821
OAH2	0,1197	0,0922	0,1529	0,1173	0,1033	0,0962	0,1426	0,1296	0,0799	0,1048
OAH3	0,1773	0,0574	0,2097	0,0705	0,1255	0,0319	0,0748	0,0907	0,2210	0,0948
OAH4	0,1951	0,0576	0,1158	0,0637	0,1131	0,0696	0,1049	0,0791	0,0973	0,9593
OAH5	0,1562	0,2340	0,1634	0,1181	0,1569	0,1030	0,0680	0,0310	0,2039	0,1881
OAH6	0,1212	0,0858	0,0584	0,0742	0,0593	0,1083	0,0971	0,1247	0,0457	0,0174
OAH7	0,0785	0,2631	0,0604	0,1858	0,0688	0,1221	0,0242	0,3011	0,0505	0,1197
OAH8	0,1135	0,2231	0,1218	0,1211	0,0920	0,1218	0,0777	0,0369	0,1509	0,0994

Na Tabela G.5 apresentam-se as massas acumuladas de baba de caracol obtidas, após a otimização do tempo de extração de baba por sucção, com adição de água destilada.

Tabela G.5 – Massas acumuladas de baba, após a otimização do tempo de extração por sucção, com adição de água destilada.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Massa acumulada de baba produzida por cada espécime a cada minuto (g)									
OAH1	0,3531	2,5379	3,0545	3,5900	3,7202	3,7671	3,7822	3,9617	4,2963	4,3557
OAH2	0,5056	1,1992	3,9999	4,6270	4,9602	5,0661	5,2359	5,4973	5,5390	5,9892
OAH3	0,4295	0,7568	2,2026	3,2643	3,8028	4,9145	5,0197	5,0739	5,1239	5,2528
OAH4	1,3607	2,1317	3,2413	3,6086	3,7289	4,2454	4,5559	4,7690	4,9153	4,9276
OAH5	0,9404	2,0605	2,3833	2,5481	2,6458	2,7915	2,9756	3,0148	3,1075	3,1848
OAH6	1,1399	1,4793	1,8193	2,1881	2,5457	2,6193	2,8542	3,0201	3,1705	3,2487
OAH7	1,3523	2,1491	2,4684	2,5737	2,6768	2,7659	2,8929	3,1236	3,1832	3,2363
OAH8	0,9485	1,4064	1,5875	1,7060	1,8563	1,9354	1,9868	2,1997	2,3077	2,5113

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Massa acumulada de baba produzida por cada espécime a cada minuto (g)									
OAH1	4,5266	4,9922	5,1202	5,2231	5,3299	5,4036	5,5180	5,7502	5,8474	6,0294
OAH2	6,1089	6,2011	6,3540	6,4714	6,5747	6,6709	6,8134	6,9430	7,0230	7,1278
OAH3	5,4301	5,4875	5,6972	5,7677	5,8931	5,9250	5,9998	6,0905	6,3115	6,4063
OAH4	5,1227	5,1803	5,2961	5,3598	5,4729	5,5425	5,6474	5,7265	5,8239	6,7831
OAH5	3,3409	3,5750	3,7384	3,8565	4,0134	4,1164	4,1844	4,2153	4,4193	4,6074
OAH6	3,3699	3,4557	3,5141	3,5884	3,6476	3,7559	3,8530	3,9777	4,0234	4,0409
OAH7	3,3147	3,5778	3,6381	3,8239	3,8927	4,0148	4,0390	4,3401	4,3906	4,5103
OAH8	2,6248	2,8479	2,9697	3,0908	3,1828	3,3046	3,3823	3,4192	3,5701	3,6696

Na Tabela G.6 apresentam-se as diferenças entre a massa acumulada de baba produzida e a massa perdida pelo espécime, para otimização do tempo de extração de baba de caracol, obtida por sucção a cada espécime estudado, com adição de água destilada durante o processo.

Tabela G.6 – Diferença entre os valores de massa acumulada de baba produzida e os valores de massa perdida pelo espécime, para otimização do tempo de extração de baba obtida por sucção a cada espécime estudado, com adição de água destilada durante o processo de extração.

Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Diferença entre a massa acumulada de baba produzida e a massa perdida pelo espécime a cada minuto (g)									
OAH1	0,0965	0,5717	0,5823	0,8101	0,7990	0,7909	0,7661	0,9668	1,1938	1,2590
OAH2	0,4129	0,5919	1,0178	1,0029	1,0832	1,0183	1,1390	1,3032	1,3154	1,6167
OAH3	0,3373	0,5693	0,6025	0,6020	0,5576	0,4560	0,4849	-0,2272	0,3987	0,4203
OAH4	0,2162	0,2073	0,4515	0,5200	0,5790	0,8114	0,8460	1,0021	1,0992	0,9553
OAH5	0,1602	0,1390	0,2693	0,3908	0,3352	0,5014	0,6374	0,6840	0,7419	0,8075
OAH6	0,4586	0,5227	0,6967	0,9763	1,2317	1,2432	1,4184	1,5312	1,6186	1,6882
OAH7	0,1653	0,5692	0,8655	0,8693	0,8754	0,9103	0,9138	1,0702	1,2228	1,2865
OAH8	0,0447	0,2721	0,3872	0,5102	0,6337	0,7143	0,7837	0,9313	1,0033	1,2142
Ensaio	Tempo de extração (minutos)									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
	Diferença entre a massa acumulada de baba produzida e a massa perdida pelo espécime a cada minuto (g)									
OAH1	1,4093	1,8202	1,9585	2,0678	2,0797	2,1086	2,2453	2,4271	2,5472	2,7650
OAH2	1,6849	1,7067	1,8603	1,9283	2,0659	2,1157	2,2514	2,3018	2,3547	2,4668
OAH3	0,5487	0,5588	0,5441	0,5965	0,8178	0,8105	0,8884	0,9448	1,2291	1,2817
OAH4	1,1382	0,7593	0,9039	0,9412	1,0289	1,1860	1,3452	1,4018	1,5040	2,3749
OAH5	0,9310	1,1150	1,2712	1,3860	1,5357	1,6430	1,6974	1,7076	1,9190	2,1227
OAH6	1,8027	1,6986	1,7947	1,8240	1,8918	1,9545	2,0507	2,1407	2,1664	2,1552
OAH7	1,4756	1,4930	1,6547	1,7896	1,8309	2,0543	2,0192	1,9203	1,9331	2,1031
OAH8	1,2806	1,3143	1,4365	1,4999	1,5989	1,7215	1,7789	1,7882	1,9406	2,0026

Na Tabela G.7 apresentam-se os valores obtidos para a massa de água evaporada durante o processo de secagem e os tempos do processo de secagem, das amostras de baba de caracol.

Tabela G.7 – Valores da massa de água evaporada durante a secagem e o tempo do processo de secagem.

Ensaio	Massa de água evaporada durante a secagem (g)	Tempo de secagem (minutos)
OAH1	14,9184	1403
OAH2	14,3065	1452
OAH3	12,1247	1398
OAH4	14,7614	1483
OAH5	12,2563	1580
OAH6	12,7192	1232
OAH7	12,3232	1384
OAH8	12,0848	1166

Este processo de secagem foi realizado a amostras de baba obtidas durante a otimização do tempo de extração de baba de caracol por sucção ao nível do pé de cada espécime, com administração de água destilada durante o processo, com o intuito da determinação da percentagem de água absorvida pelo caracol durante o processo de extração.

De referir que testes análogos realizados com secagem da baba na estufa *Nahita Drying Oven Model 631 plus* a uma temperatura de *set-point* de 50°C revelaram tempos de secagem superiores aos apresentados na Tabela G.7. Esses testes foram descartados, não só pela detioração visível da baba, como pela ineficácia de secagem da mesma num curto espaço de tempo. Através da Tabela G.3, da Tabela G.4 e da Tabela G.5, do presente anexo, foram realizados os diagramas de massas parciais e acumuladas de baba produzida e os valores de massa perdida pelo espécime em função do tempo de extração de baba de caracol, apresentados na Figura G.1, relativos aos ensaios denominados por (OAH1) a (OAH8). Denota-se que na otimização do tempo de extração de baba por sucção do caracol, com adição de água destilada durante o processo de extração, as funções de massa acumulada de baba produzida e de massa perdida pelo espécime apresentam um crescimento para uma fase inicial e um decréscimo no incremento de dados, com o aumento do tempo de extração. Verifica-se que o tempo ótimo descreve um menor valor, comparativamente com os métodos de otimização do tempo de extração por centrifugação ou por estímulo com uma vareta de vidro, ao nível do pé do caracol.

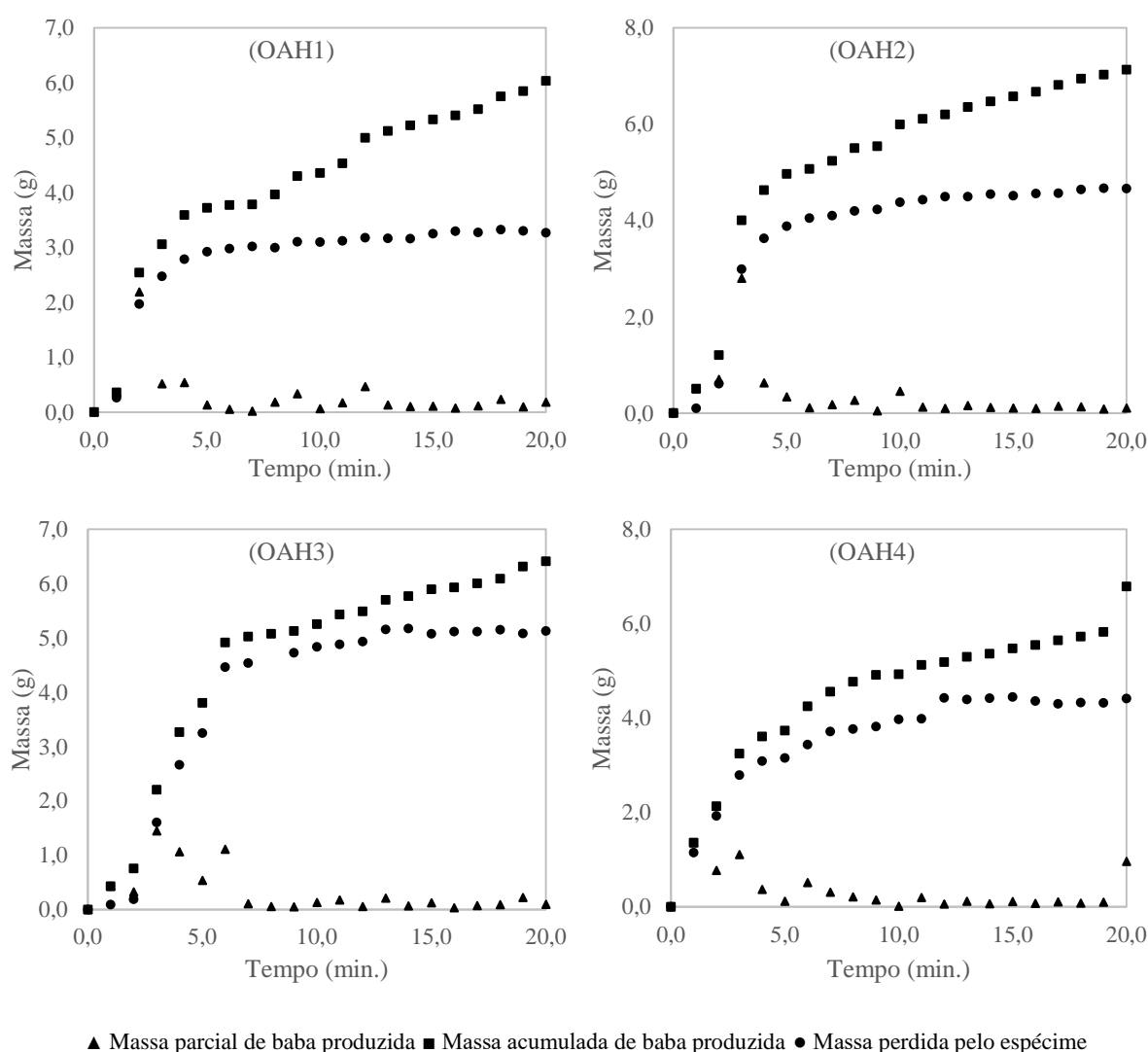


Figura G.1 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios (OAH1) a (OAH8).

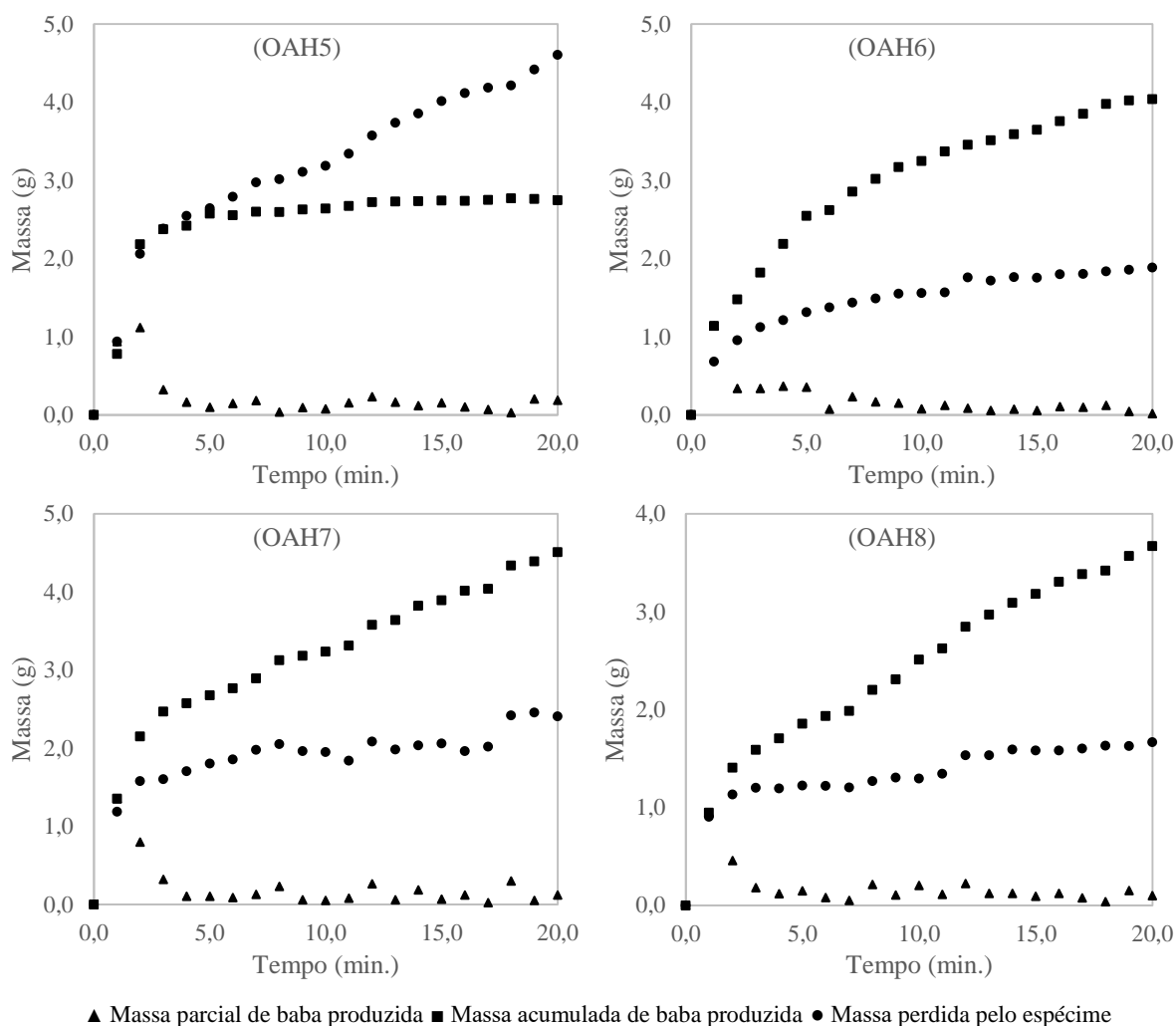


Figura G.1 – Diagrama de valores das massas perdidas pelos espécimes, massas parciais e acumuladas de baba produzida, em função do tempo de extração, para os ensaios (OAH1) a (OAH8) (continuação).

Analisando os diagramas apresentados na Figura G.1, foi possível verificar que, ao contrário das otimizações do tempo de extração de baba realizadas anteriormente, os valores da massa acumulada de baba produzida são superiores aos valores da massa perdida pelo espécime. A razão provém da administração de água destilada ao espécime durante a extração, na qual este, ao absorver a água destilada, apresenta um maior peso corporal, por hidratação, a cada tempo de extração, o que provoca uma diminuição nos valores de massa perdida pelo espécime.

Os máximos de produção de massa parcial de baba obtida a cada minuto, para cada ensaio, ocorreram no 2º minuto de extração para os ensaios (OAH1) e (OAH5), no 3º minuto para os ensaios (OAH2) e (OAH3) e no 1º minuto para os ensaios (OAH4), (OAH6), (OAH7) e (OAH8). Os ensaios realizados por este método, suscita a que poderia ser retirada uma maior quantidade de baba, visto que a perda de massa do caracol se mantém com declive constante e inferior à massa acumulada de baba produzida, para tempos finais de extração. Contudo, foram consideradas as reações do espécime de forma a não provocar um *stress* desnecessário. Verificou-se, neste método, que os espécimes apresentavam uma tortuosidade no rebordo do pé, após um determinado tempo de extração, sendo considerado esse o tempo ótimo de extração.

Estes valores foram, ainda, considerados tendo em conta as diferenças entre a massa acumulada de baba produzida e a massa perdida pelo espécime. Foram, assim, validados os tempos ótimos de extração de 12 minutos para os ensaios (OAH1) e (OAH8), de 10 minutos para o ensaio (OAH2), de 6 minutos para o ensaio (OAH3), de 9 minutos para os ensaios (OAH4) e (OAH6), de 7 minutos para o ensaio (OAH5) e de 8 minutos para o ensaio (OAH7). As massas calculadas aos 11 e 20 minutos, para o ensaio (OAH4), não foram considerados na determinação do tempo ótimo, por terem sido obtidos após o caracol apresentar a tortuosidade no rebordo do pé.

H. Processo de Extração de Baba

Nesta secção apresentam-se os dados obtidos através dos quatro processos de extração de baba realizados, durante 10 minutos de extração. Apresentam-se, na Tabela H.1, os valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, massa de baba produzida e data da extração, para três metodologias diferentes.

Tabela H.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, quantidade de baba produzida e data do processo de extração de baba de caracol através de três metodologias diferentes.

Ensaio	Data da extração (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial de extração (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo inicial de retração durante a extração (s)	Tempo de produção de baba após paragem de estímulo (s)	Massa de baba produzida (g)
EV1	11/02/2015	17:42	12,5	63	Imediato	Imediato	451	4,8511
EV2	11/02/2015	18:21	12,7	63	137	S.O.	216	0,9204
EV3	11/02/2015	18:45	12,8	63	Imediato	S.O.	267	6,1609
EV4	11/02/2015	19:23	12,7	63	Imediato	S.O.	S.O.	8,2656
EV5	25/02/2015	19:00	16,3	63	159	S.O.	S.O.	1,8488
EV6	25/02/2015	19:20	16,2	63	Imediato	S.O.	466	0,1909
EV7	25/02/2015	19:42	16,3	63	74	Imediato	482	0,2787
EV8	25/02/2015	20:05	16,3	63	247	Imediato	620	0,8436
EV9	06/03/2015	12:52	18,0	52	Imediato	S.O.	70	0,2635
EV10	06/03/2015	13:22	18,0	52	353	S.O.	172	0,3449
EV11	06/03/2015	15:00	18,0	52	276"	S.O.	302	0,4229
EV12	06/03/2015	18:25	18,0	52	Imediato	S.O.	252	4,4025
EV13	12/03/2015	15:56	18,0	60	52	360	453	2,3113
EV14	12/03/2015	16:44	18,0	60	401	S.O.	598	0,9319
EV15	12/03/2015	17:16	18,0	60	Imediato	S.O.	S.O.	1,0863
EV16	12/03/2015	18:00	18,0	60	75	120	231	2,6419
EV17	26/03/2015	12:55	18,0	59	157	180	520	1,3889
EV18	26/03/2015	16:12	18,6	56	148	S.O.	S.O.	0,2064
EV19	26/03/2015	17:37	18,3	54	282	S.O.	703	0,1059
EC1	15/05/2015	14:44	22,5	63	N.V.	N.V.	S.O.	0,3982
EC2	15/05/2015	14:44	22,5	63	N.V.	N.V.	S.O.	1,5003
EC3	15/05/2015	14:44	22,5	63	N.V.	N.V.	343	1,4430
EC4	15/05/2015	14:44	22,5	63	N.V.	N.V.	S.O.	0,6332
EC5	20/05/2015	15:56	23,4	63	N.V.	N.V.	S.O.	0,6638
EC6	20/05/2015	15:56	23,4	63	N.V.	N.V.	S.O.	0,1020
EC7	20/05/2015	15:56	23,4	63	N.V.	N.V.	S.O.	0,9433
EC8	20/05/2015	15:56	23,4	63	N.V.	N.V.	S.O.	1,6456

Tabela H.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, quantidade de baba produzida e data do processo de extração de baba de caracol através de três metodologias diferentes (continuação).

Ensaio	Data da extração (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial de extração (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo inicial de retração durante a extração (s)	Tempo de produção de baba após paragem de estímulo (s)	Massa de baba produzida (g)
EA1	19/03/2015	14:54	17,9	55	Imediato	60	S.O.	0,2958
EA2	19/03/2015	16:20	17,9	55	Imediato	S.O.	S.O.	0,5187
EA3	19/03/2015	17:41	17,9	55	Imediato	S.O.	S.O.	0,3496
EA4	19/03/2015	18:57	17,9	55	Imediato	S.O.	S.O.	0,2438
EA5	31/03/2015	15:24	18,0	54	105	Imediato	333	2,2374
EA6	31/03/2015	16:51	19,1	56	Imediato	S.O.	149	3,8527
EA7	01/04/2015	15:03	20,0	60	Imediato	S.O.	305	0,8954
EA8	01/04/2015	15:50	20,3	59	Imediato	S.O.	421	7,2248
EA9	01/04/2015	16:26	21,5	59	Imediato	226	521	1,4949
EA10	01/04/2015	17:05	20,6	59	Imediato	17	494	3,6458
EA11	02/04/2015	11:34	21,3	55	Imediato	111	478	1,5356
EA12	02/04/2015	14:54	21,0	55	Imediato	32	445	4,7870
EA13	02/04/2015	15:34	21,3	56	Imediato	S.O.	386	1,7541
EA14	02/04/2015	16:15	21,9	56	Imediato	Imediato	237	2,0325
EA15	02/04/2015	16:40	21,9	56	Imediato	S.O.	298	3,2527
EA16	07/04/2015	16:33	22,3	58	120	277	107	1,5519
EA17	07/04/2015	17:21	22,3	58	Imediato	S.O.	598	2,2415
EA18	09/04/2015	16:31	22,2	53	499	S.O.	S.O.	0,2446
EA19	09/04/2015	17:17	22,5	53	Imediato	S.O.	S.O.	0,4776
EA20	09/04/2015	17:53	22,8	53	Imediato	Imediato	555	1,5631
EA21	09/04/2015	19:01	22,5	53	Imediato	Imediato	472	0,6108
EA22	10/04/2015	12:41	21,2	55	503	121	101	4,2787
EA23	10/04/2015	13:33	21,5	55	116	194	374	1,8845
EA24	10/04/2015	14:23	21,5	55	570	S.O.	S.O.	0,4583
EA25	10/04/2015	14:55	21,8	55	Imediato	Imediato	325	3,3803
EA26	10/04/2015	15:38	21,8	55	Imediato	56	399	5,8771
EA27	10/04/2015	16:20	21,5	55	Imediato	Imediato	702	4,6159
EA28	10/04/2015	17:03	21,8	55	Imediato	S.O.	S.O.	0,7411
EA29	10/04/2015	17:03	21,9	55	123	Imediato	283	2,6263
EA30	10/04/2015	17:03	21,9	55	Imediato	116	523	4,6335

No processo de extração por centrifugação (ensaios (EC)) não foram obtidos o tempo inicial de produção de baba nem o tempo inicial de retração, pois a centrífuga utilizada apenas funcionava com a tampa fechada, não sendo visível o interior do tambor de centrifugação.

I. Processo de Extração de Baba por Sucção, com Administração de Água Destilada ao Caracol, durante o Processo de Extração

Esta secção descreve os dados obtidos pelo processo de extração de baba de caracol por sucção, com administração de água destilada durante o processo, durante 10 minutos a cada ensaio.

Na Tabela I.1 apresentam-se os valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, massa de baba produzida e data do processo de extração de baba por sucção, com administração de água destilada, a cada espécime estudado.

Tabela I.1 – Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, quantidade de baba produzida e data do processo de extração de baba de caracol por sucção, com adição de água destilada, a cada espécime estudado.

Ensaio	Data da extração (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial da extração (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo inicial de retração durante a extração (s)	Tempo de produção de baba após paragem de estímulo (s)	Massa de baba produzida (g)
EAH1	23/06/2015	13:05	28,0	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,8469
EAH2	23/06/2015	13:54	28,0	49	Imediato	S.O.	S.O.	3,2230
EAH3	23/06/2015	14:34	28,3	49	Imediato	127	S.O.	3,6637
EAH4	23/06/2015	15:16	28,0	48	Imediato	S.O.	S.O.	3,9915
EAH5	23/06/2015	16:00	28,3	44	Imediato	S.O.	S.O.	3,7717
EAH6	02/07/2015	16:35	28,3	44	Imediato	S.O.	S.O.	2,9000
EAH7	02/07/2015	17:26	28,6	45	Imediato	262	S.O.	2,3110
EAH8	02/07/2015	12:04	27,0	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,6284
EAH9	02/07/2015	12:44	28,1	49	Imediato	S.O.	S.O.	3,9427
EAH10	02/07/2015	13:24	28,1	49	Imediato	S.O.	S.O.	3,3956
EAH11	15/07/2015	12:36	27,7	52	Imediato	383	S.O.	2,7070
EAH12	15/07/2015	13:26	28,0	52	Imediato	S.O.	S.O.	4,1082
EAH13	15/07/2015	15:02	28,0	52	Imediato	S.O.	S.O.	4,5125
EAH14	15/07/2015	16:19	28,0	52	Imediato	173	S.O.	2,8969
EAH15	15/07/2015	17:09	28,3	51	Imediato	S.O.	S.O.	3,6335
EAH16	28/07/2015	11:06	28,6	50	Imediato	S.O.	S.O.	2,4167
EAH17	28/07/2015	11:53	28,9	50	Imediato	S.O.	S.O.	2,2975
EAH18	28/07/2015	12:29	28,9	50	Imediato	S.O.	S.O.	2,5760
EAH19	28/07/2015	13:18	28,9	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,8543
EAH20	28/07/2015	14:05	28,9	50	Imediato	469	S.O.	4,6889
EAH21	28/07/2015	14:49	28,6	50	Imediato	S.O.	S.O.	2,6539

Os valores de temperatura e humidade ambiente foram obtidos com um *Termohigrómetro Digital Basic Houseplant* com sonda.

J. Extração de Baba para Análises Físico/Químicas

Nesta secção apresentam-se os dados obtidos, durante 10 minutos de extração, para o processo de extração de baba de caracol por sucção ao nível do pé de cada espécime e os dados obtidos por um processo de extração de baba análogo ao referido na secção anterior, realizado a espécimes com eclosão em épocas diferentes, para posterior análise de propriedades físico/químicas. Na Tabela J.1 apresentam-se os valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de extração, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, massa de baba produzida, massa perdida pelo espécime e data do processo de extração de baba de caracol por sucção, com administração de 4,0 mL de água destilada a cada espécime durante o processo de extração, para posterior análises das propriedades físico/químicas da baba de caracol extraída.

O volume de 4,0 mL de água destilada foi estipulado através da quantidade de água absorvida pelo caracol, proveniente dos cálculos realizados no processo de secagem de baba de caracol.

Tabela J.1 - Valores de temperatura e humidade ambiente, tempo inicial de retração durante a extração, tempo de produção após paragem de estímulo, tempo inicial de produção de baba, tempo inicial da extração, massa de baba produzida, massa perdida pelo espécime e data do processo de extração de baba de caracol, com 10 minutos de extração, através de sucção com adição de 4,0 mL água destilada a cada espécime estudado, para posteriores análises físico/químicas à baba extraída.

Ensaio	Data da extração (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial da extração (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Tempo inicial de produção de baba (s)	Tempo inicial de retração (s)	Tempo de produção após paragem de estímulo (s)	Massa de baba (g)	Massa perdida pelo espécime (g)
EAHS1	07/09/2015	11:20	26,3	47	Imediato	S.O.	S.O.	3,7070	3,5027
EAHS2	07/09/2015	12:15	27,3	47	Imediato	156	S.O.	5,5575	4,7949
EAHS3	07/09/2015	13:00	27,2	49	Imediato	275	S.O.	5,6352	4,9630
EAHS4	07/09/2015	13:42	26,9	49	Imediato	S.O.	S.O.	3,7208	2,8553
EAHS5	07/09/2015	14:31	26,9	49	Imediato	S.O.	S.O.	4,9081	4,4120
EAHS6	07/09/2015	15:15	26,9	47	Imediato	S.O.	S.O.	3,2089	2,5142
EAHS7	08/09/2015	09:12	26,3	50	Imediato	S.O.	S.O.	5,2734	4,5015
EAHS8	08/09/2015	10:18	26,9	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,9420	3,1336
EAHS9	08/09/2015	10:57	27,5	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,9084	3,0829
EAHS10	08/09/2015	11:35	27,5	50	Imediato	S.O.	S.O.	5,2008	4,6719
EAHS11	08/09/2015	12:14	27,5	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,8508	3,0535
EAHS12	08/09/2015	12:49	27,2	50	Imediato	S.O.	S.O.	3,3161	2,4352
EAHS13	08/09/2015	13:36	27,5	51	Imediato	S.O.	S.O.	3,2229	2,2708
EAHS14	08/09/2015	14:02	27,5	51	Imediato	S.O.	S.O.	4,5406	3,6122
EAHS15	08/09/2015	14:42	27,5	51	Imediato	S.O.	S.O.	2,9481	2,0446
EAHS16	14/09/2015	10:45	24,8	58	Imediato	S.O.	S.O.	2,7344	1,7827
EAHS17	14/09/2015	11:20	25,1	56	Imediato	S.O.	S.O.	2,6690	1,6458
EAHS18	14/09/2015	11:57	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	3,5925	2,5798
EAHS19	14/09/2015	12:27	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	4,0739	3,0487
EAHS20	14/09/2015	13:03	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	3,8200	2,8084
EAHS21	14/09/2015	13:36	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	6,6519	3,1991
EAHS22	14/09/2015	14:13	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	3,5369	2,5373
EAHS23	14/09/2015	14:45	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	3,2363	2,2550
EAHS24	14/09/2015	15:22	25,1	55	Imediato	382	S.O.	4,0484	3,0711
EAHS25	14/09/2015	15:56	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	5,0824	3,8137
EAHS26	14/09/2015	16:30	25,1	55	Imediato	58	S.O.	4,7354	3,7942
EAHS27	14/09/2015	17:03	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	3,5961	2,6988
EAHS28	14/09/2015	17:36	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	4,8090	3,8001
EAHS29	14/09/2015	18:00	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	3,2586	2,2787
EAHS30	14/09/2015	18:29	25,1	55	Imediato	S.O.	S.O.	2,4923	1,4524

Na Tabela J.2 apresentam-se as datas de extração, os valores do tempo inicial de extração da baba de caracol, a temperatura e a humidade ambiente, as massas dos tubos de ensaio para obtenção da baba e a quantidade de baba produzida durante 10 minutos de extração, a diferentes espécimes, de modo a analisar posteriormente as propriedades físico/químicas à baba extraída.

Nesses dados não foram contabilizados o tempo inicial de produção de baba, o tempo inicial de retração do espécime e o tempo de produção de baba após paragem do processo de extração.

Tabela J.2 – Valores do tempo inicial de extração, a temperatura e a humidade ambiente, quantidade de baba produzida e dada de extração de baba por sucção de cada espécime, para posterior realização de análises físico/químicas à baba obtida.

Ensaio	Data da extração (Dia/Mês/Ano)	Tempo inicial de extração (horas)	T _{amb.} (°C)	H _{amb.} (%HR)	Massa de baba produzida (g)
EB1	10/09/2015	08:21	25,8	51	1,9908
EB2	10/09/2015	08:37	26,1	51	1,8705
EB3	10/09/2015	09:14	26,0	51	1,8166
EB4	10/09/2015	09:35	26,2	51	1,8343
EB5	10/09/2015	09:59	26,2	51	1,7423
EB6	10/09/2015	10:31	26,2	52	1,8472
EB7	10/09/2015	11:03	26,2	52	1,2902
EB8	10/09/2015	11:26	26,2	52	1,2604
EB9	10/09/2015	11:54	26,2	52	1,0642
EB10	10/09/2015	12:31	26,2	52	1,5268
EB11	10/09/2015	12:57	26,2	52	1,8499
EB12	10/09/2015	13:36	26,2	52	2,0291
EB13	10/09/2015	14:37	26,2	52	1,8608
EB14	10/09/2015	15:16	26,2	52	2,3547
EB15	10/09/2015	15:42	26,2	52	2,2628
EB16	16/09/2015	08:12	24,7	54	1,4787
EB17	16/09/2015	08:36	24,7	54	2,7576
EB18	16/09/2015	09:08	24,7	54	1,2594
EB19	16/09/2015	09:47	24,7	54	0,9252
EB20	16/09/2015	10:13	24,7	54	1,3256
EB21	16/09/2015	10:42	24,7	54	1,7546
EB22	16/09/2015	11:12	24,7	54	1,9464
EB23	16/09/2015	11:31	24,8	54	0,7724
EB24	16/09/2015	12:07	24,8	54	1,8018
EB25	16/09/2015	12:46	24,8	54	1,7696
EB26	16/09/2015	13:17	24,8	54	1,7361
EB27	16/09/2015	13:36	24,8	54	1,4517
EB28	16/09/2015	14:13	24,9	54	1,9016
EB29	16/09/2015	14:44	24,9	54	1,9470
EB30	16/09/2015	15:52	24,9	54	1,8988

K. Curva de Calibração das Proteínas

Para determinação da curva de calibração densidade ótica vs. concentração de proteínas, preparou-se previamente uma solução contendo o reagente Coomassie Brilliant Blue G-250. A preparação dessa solução foi realizada segundo o método Bradford (Bradford, 1976). Num vidro de relógio pesou-se 100 mg do reagente Coomassie Brilliant Blue G-250 numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*), através de uma espátula. Com o auxílio de um funil de vidro transferiu-se a massa do reagente para um balão volumétrico de 1 L \pm 0,4 mL.

Com uma pipeta volumétrica de $50 \text{ mL} \pm 0,05 \text{ mL}$ lavou-se o vidro de relógio com álcool etílico para o balão volumétrico de 1 L, adicionando todo o volume ao balão. Adicionou-se 100 mL de ácido fosfórico, com uma pipeta volumétrica de $100 \text{ mL} \pm 0,075 \text{ mL}$, à solução no interior do balão de 1 L. A adição do ácido fosfórico foi realizada lentamente, tendo em especial atenção à temperatura do balão volumétrico.

Perfez-se o balão com água destilada até obter 1 L de solução. Após agitação do balão contendo a solução preparada, transferiu-se a solução para um frasco de vidro escuro de 2 L através de um filtro de papel (*Análise Qualitativo* de 150 mm de diâmetro), colocado em pregas no interior de um funil de vidro. Por fim, rotulou-se o frasco escuro.

Seguidamente apresentam-se os valores obtidos para determinação da curva de calibração para determinação da concentração de proteínas nas amostras de baba de caracol recolhidas com a denominação de (EAHS) e (EBCF) e a respetiva curva de calibração. É ainda descrita a preparação das soluções padrão usadas para obter a curva de calibração, segundo o método de determinação de proteínas, estipulado por Bradford (Bradford, 1976).

Previamente, pesou-se num vidro de relógio, 0,5 g de (ABS) numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204 0,1mg*) e transferiu-se para um balão volumétrico de $50 \text{ mL} \pm 0,06 \text{ mL}$ com auxílio de um funil de vidro. Lavou-se o vidro de relógio e o funil com água destilada até perfazer o volume do balão. Tapou-se o balão contendo a solução, rotulou-se e agitou-se.

Para um balão volumétrico ($100 \text{ mL} \pm 0,1 \text{ mL}$) foi transferido 0,5 ml da solução padrão com auxílio de uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*). Para dois balões volumétricos de $100 \text{ mL} \pm 0,1 \text{ mL}$ foi transferido respetivamente 2 mL e 4 mL da solução padrão, através de uma micropipeta de 5 mL. Para outros três balões volumétricos de $100 \text{ mL} \pm 0,1 \text{ mL}$ foram transferidos 6 mL, 8 mL e 10 mL, respetivamente, da solução padrão com o auxílio de uma pipeta graduada de $10 \text{ mL} \pm 0,05 \text{ mL}$. Perfizeram-se os balões de 100 mL com água destilada, rotularam-se e agitaram-se.

Pipetou-se 0,1 mL com uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*) de cada solução, contida nos balões de 100 mL, para tubos de ensaio. A adição de cada solução aos tubos de ensaio foi realizada em triplicado. Com uma micropipeta de 5 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*) adicionou-se 5 mL de reagente Coomassie Brilliant Blue, previamente preparado, tal como descrito anteriormente.

Agitou-se cada tubo de ensaio num vortex (*Nahita 681/5 Code 50681500*). Preparou-se, ainda, um tubo de ensaio, de forma análoga aos já descritos, com 0,1 mL de água destilada e 5 mL de reagente Coomassie Blue e agitou-se no vortex para preparação do branco.

Na Tabela K.1 apresentam-se os valores da densidade ótica, obtidos a 595 nm, por espectrofotometria, referentes a cada concentração de albumina de soro bovino previamente preparada, em amostras realizadas em triplicado.

Os valores foram obtidos segundo o método de determinação de proteínas (Bradford, 1976).

Tabela K.1 – Valores de densidade ótica a 595 nm e da concentração de albumina de soro bovino para representação da curva de calibração de proteínas.

Amostra	[Albumina de soro bovino] (mg/mL)	D.O. (595 nm)
1	0,05	0,038
2	0,05	0,036
3	0,05	0,036
4	0,2	0,131
5	0,2	0,128
6	0,2	0,137
7	0,4	0,242
8	0,4	0,247
9	0,4	0,243
10	0,6	0,365
11	0,6	0,361
12	0,6	0,362
13	0,8	0,469
14	0,8	0,478
15	0,8	0,477
16	1,0	0,580
17	1,0	0,579
18	1,0	0,574

Na Figura K.1 apresenta-se a curva de calibração das densidades óticas, obtidas a 595 nm por espectrofotometria, em função da concentração de albumina de soro bovino, para posterior determinação das concentrações de proteínas na baba de caracol.

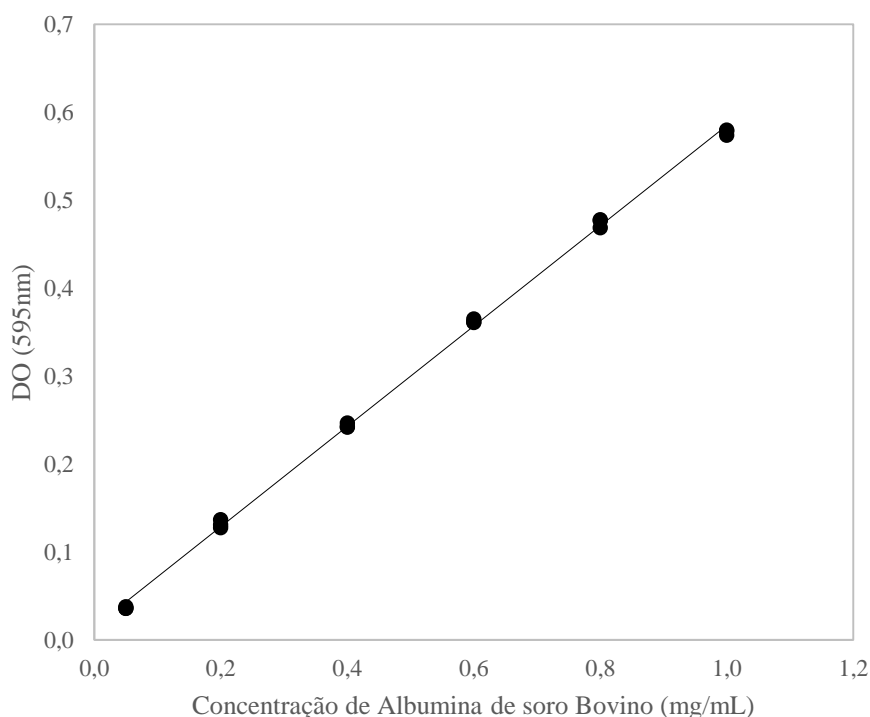


Figura K.1 – Curva de calibração da densidade ótica a 595 nm em função da concentração de albumina de soro bovino.

Obteve-se um coeficiente de determinação com o valor de 0,9991, confirmando a correlação entre a variável de densidades óticas e os valores de concentração de albumina de soro bovino.

A equação obtida para a curva de calibração das proteínas é descrita pela equação (12).

$$DO (595 \text{ nm}) = 0,5701 \times [\text{Albumina de soro Bovino}] + 0,0148 \quad (12)$$

Onde $DO (595 \text{ nm})$ é a densidade ótica observada para cada concentração e $[\text{Albumina de soro Bovino}]$ descreve a concentração de albumina de soro bovino preparada.

L. Densidade Ótica obtida para a Determinação da Concentração de Proteínas na Baba de Caracol

Nesta secção apresentam-se as densidades óticas obtidas para a determinação da concentração de proteínas nas amostras identificadas por (EBCF) e (EB). Na Tabela L.1 apresentam-se as densidades óticas e respetivas diluições, realizadas em triplicado, das amostras (EBCF) e (EB).

Tabela L.1 – Valores das densidades óticas para determinação de proteínas na baba de caracol e respetivas diluições, realizadas em triplicado, para as amostras de baba identificadas por (EBCF).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (595 nm)	Diluição
EBCF2	1	0,452	1:10
	2	0,457	1:10
	3	0,455	1:10
EBCF3	1	0,483	1:10
	2	0,485	1:10
	3	0,487	1:10
EBCF4	1	0,227	1:10
	2	0,221	1:10
	3	0,220	1:10
EBCF5	1	0,411	1:10
	2	0,410	1:10
	3	0,408	1:10
EBCF6	1	0,242	1:10
	2	0,242	1:10
	3	0,234	1:10
EBCF7	1	0,136	1:10
	2	0,133	1:10
	3	0,136	1:10
EBCF8	1	0,239	1:10
	2	0,247	1:10
	3	0,237	1:10
EBCF9	1	0,403	1:15
	2	0,400	1:15
	3	0,399	1:15
EBCF10	1	0,513	1:10
	2	0,516	1:10
	3	0,518	1:10
EBCF11	1	0,312	1:10
	2	0,306	1:10
	3	0,306	1:10
EBCF12	1	0,240	1:10
	2	0,238	1:10
	3	0,240	1:10
EBCF13	1	0,121	1:10
	2	0,121	1:10
	3	0,118	1:10

Tabela L.1 – Valores das densidades óticas para determinação de proteínas na baba de caracol e respectivas diluições, realizadas em triplicado, para as amostras de baba identificadas por (EBCF) (continuação).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (595 nm)	Diluição
EBCF14	1	0,544	1:20
	2	0,554	1:20
	3	0,553	1:20
EBCF15	1	0,200	1:10
	2	0,205	1:10
	3	0,201	1:10
EBCF16	1	0,206	1:10
	2	0,208	1:10
	3	0,210	1:10
EBCF17	1	0,134	1:10
	2	0,135	1:10
	3	0,135	1:10
EBCF18	1	0,419	1:10
	2	0,415	1:10
	3	0,416	1:10
EBCF19	1	0,377	1:10
	2	0,362	1:10
	3	0,371	1:10
EBCF20	1	0,404	1:10
	2	0,389	1:10
	3	0,415	1:10
EBCF21	1	0,334	1:10
	2	0,341	1:10
	3	0,331	1:10
EBCF22	1	0,492	1:10
	2	0,490	1:10
	3	0,481	1:10
EBCF23	1	0,168	1:10
	2	0,174	1:10
	3	0,177	1:10
EBCF24	1	0,519	1:10
	2	0,503	1:10
	3	0,508	1:10
EBCF25	1	0,485	1:10
	2	0,487	1:10
	3	0,492	1:10
EBCF26	1	0,435	1:10
	2	0,435	1:10
	3	0,433	1:10
EBCF27	1	0,528	1:10
	2	0,529	1:10
	3	0,527	1:10
EBCF28	1	0,417	1:10
	2	0,409	1:10
	3	0,402	1:10
EBCF29	1	0,431	1:10
	2	0,430	1:10
	3	0,427	1:10
EBCF30	1	0,271	1:10
	2	0,265	1:10
	3	0,268	1:10

As leituras das densidades óticas foram realizadas em triplicado, por espectrofotometria.

De referir novamente que os dados do ensaio denominado por (EBCF1) não são contemplados Tabela L.1, visto que não foi possível recuperar a amostra após o processo de filtração. As diluições efetuadas para a Tabela L.1 foram realizadas de modo a que os valores das densidades óticas se apresentassem em conformidade com a gama de valores da curva de calibração, apresentada no anexo K. Os valores das densidades óticas para determinação da concentração de proteínas na baba de caracol e respetivas diluições realizadas para os ensaios obtidos pelo processo de extração por sucção a cada espécime, identificadas por (EB), apresentam-se na Tabela L.2. Os valores das densidades óticas foram observadas em triplicado.

Tabela L.2 – Valores das densidades óticas para determinação da concentração de proteínas presentes na baba de caracol, com as respetivas diluições, para os ensaios obtidos por sucção, identificados por (EB).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (595 nm)	Diluição
EB1	1	0,325	1:30
	2	0,338	1:30
	3	0,340	1:30
EB2	1	0,422	1:30
	2	0,424	1:30
	3	0,410	1:30
EB3	1	0,216	1:30
	2	0,219	1:30
	3	0,220	1:30
EB4	1	0,367	1:30
	2	0,369	1:30
	3	0,365	1:30
EB5	1	0,473	1:30
	2	0,474	1:30
	3	0,468	1:30
EB6	1	0,439	1:30
	2	0,421	1:30
	3	0,428	1:30
EB9	1	0,414	1:30
	2	0,413	1:30
	3	0,412	1:30
EB10	1	0,432	1:30
	2	0,447	1:30
	3	0,444	1:30
EB11	1	0,567	1:30
	2	0,562	1:30
	3	0,571	1:30
EB12	1	0,487	1:30
	2	0,493	1:30
	3	0,485	1:30
EB13	1	0,442	1:30
	2	0,449	1:30
	3	0,453	1:30
B14	1	0,512	1:30
	2	0,515	1:30
	3	0,521	1:30
EB15	1	0,421	1:30
	2	0,417	1:30
	3	0,423	1:30

Tabela L.2 – Valores das densidades óticas para determinação da concentração de proteínas presentes na baba de caracol, com as respetivas diluições, para os ensaios obtidos por sucção, identificados por (EB) (continuação).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (595 nm)	Diluição
EB18	1	0,493	1:30
	2	0,486	1:30
	3	0,489	1:30
EB19	1	0,489	1:30
	2	0,487	1:30
	3	0,491	1:30
EB20	1	0,434	1:30
	2	0,432	1:30
	3	0,436	1:30
EB21	1	0,301	1:30
	2	0,294	1:30
	3	0,203	1:30
EB22	1	0,518	1:30
	2	0,495	1:30
	3	0,534	1:30
EB23	1	0,368	1:30
	2	0,357	1:30
	3	0,360	1:30
EB24	1	0,536	1:30
	2	0,534	1:30
	3	0,549	1:30
EB25	1	0,374	1:30
	2	0,376	1:30
	3	0,380	1:30
EB26	1	0,476	1:30
	2	0,479	1:30
	3	0,474	1:30
EB27	1	0,455	1:30
	2	0,456	1:30
	3	0,441	1:30
EB29	1	0,372	1:30
	2	0,383	1:30
	3	0,378	1:30
EB30	1	0,314	1:30
	2	0,323	1:30
	3	0,317	1:30

As densidades óticas dos ensaios (EB7), (EB8), (EB16), (EB17) e (EB28) não foram observadas, visto que a baba obtida em cada ensaio apresentava uma viscosidade muito elevada face à sucção da micropipeta, não sendo viável a medição do seu volume. As diluições descritas na Tabela L.2 foram realizadas para que as densidades óticas obtidas se apresentassem em conformidade com os valores da curva de calibração, apresentada no anexo K.

M. Curva de Calibração dos Açúcares Totais

Os valores obtidos para determinação da curva de calibração para determinação da concentração de açúcares totais nas amostras de baba de caracol recolhidas com a denominação de (EAHS) e (EBCF) e a respetiva curva de calibração são descritos seguidamente nesta secção. É, ainda, descrita a preparação das soluções padrão de glucose, usadas para obter a curva de calibração de densidades óticas em função da concentração de açúcares totais.

Para a preparação das soluções padrão, pesou-se 0,5 g de glucose num vidro de relógio, numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*). Com o auxílio de um funil de vidro transferiu-se a massa para um balão volumétrico de 50 mL \pm 0,06 mL. Passou-se o vidro de relógio com água destilada para o interior do balão volumétrico, perfazendo o volume até 50 mL. Tapou-se o balão volumétrico, rotulou-se e agitou-se de forma a homogeneizar a solução.

Com uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*), pipetaram-se os volumes de 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,6 mL, 0,8 mL e 1,0 mL para 6 balões volumétricos, com o volume de 100 mL \pm 0,1 mL. Perfizeram-se os volumes de 100 mL com água destilada, rotularam-se e agitaram-se. Pipetou-se para tubos de ensaio 0,5 mL de cada solução usando uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*). Adicionou-se a cada tubo de ensaio, um volume de 0,5 mL da solução fenol a 5% com uma micropipeta de 1 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*) e adicionou-se rapidamente um volume de 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado (>95 %), utilizando uma micropipeta de 5 mL (*VWR Ergonomic High-Performance*).

Adicionou-se, ainda, o volume de 0,5 mL de solução aquosa de fenol a 5% com um volume de 0,5 mL de água destilada e, ainda, um volume de 2,5 mL de ácido sulfúrico concentrado (>95%), num tubo de ensaio, para preparação do branco, de forma análoga às soluções padrão anteriormente preparadas. As soluções padrão foram preparadas em triplicado, deixando repousar, durante 10 minutos, à temperatura ambiente de 22,3°C (Albalasmeh *et al.*, 2013).

Agitou-se cada tubo de ensaio num *vortex* (*Nahita 681/5 Code 50681500*) e colocaram-se os tubos de ensaio, durante 20 minutos, dentro de um gobelé de 1 L com água à temperatura ambiente para o desenvolvimento da cor amarelo-alaranjada verificada na presença de açúcares (Albalasmeh *et al.*, 2013). Com o auxílio de uma *cuvette* de vidro determinou-se o zero no espectrofotómetro (*Unicam Helios γ*) com a amostra de branco preparada e seguidamente foram lidas as densidades óticas no visível a 490 nm, lavando a *cuvette* com água destilada, entre cada leitura (Lorenzi e Martins, 2008; Albalasmeh *et al.*, 2013). A Figura M.1 apresenta a curva de calibração das densidades óticas a 490 nm em função da concentração de glucose.

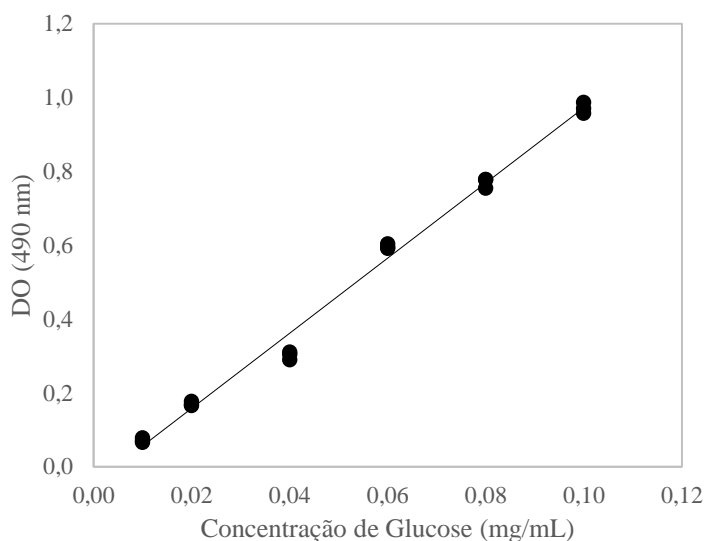


Figura M.1 – Curva de calibração da densidade ótica a 490 nm em função da concentração de glucose.

A curva de calibração de densidades óticas observadas a 490 nm em função da concentração de glucose, apresentada na Figura M.1, foi realizada através dos valores das densidades óticas, obtidas a 490 nm e das respectivas concentrações de glucose, apresentados na Tabela M.1.

Tabela M.1 – Valores das densidades óticas a 490 nm e das concentrações de glucose.

Amostra	[Glucose] (mg/mL)	D.O. (490 nm)
1	0,01	0,066
2	0,01	0,070
3	0,01	0,078
4	0,02	0,177
5	0,02	0,165
6	0,02	0,168
7	0,04	0,310
8	0,04	0,289
9	0,04	0,304
10	0,06	0,591
11	0,06	0,595
12	0,06	0,603
13	0,08	0,778
14	0,08	0,778
15	0,08	0,754
16	0,10	0,987
17	0,10	0,957
18	0,10	0,970

Através da análise dos dados obteve-se, para os valores das densidades óticas a 490 nm em função das concentrações de glucose, um coeficiente de determinação com o valor de 0,9914. Este valor atesta de correlação entre as densidades óticas obtidas a 490 nm e os valores obtidos das concentrações de glucose. A equação obtida para a curva de calibração dos açúcares totais encontra-se apresentada seguidamente:

$$DO (490 \text{ nm}) = 10,17 \times [Glucose] + 0,0454 \quad (13)$$

Em que $DO (490 \text{ nm})$ representa a densidade ótica observada para cada concentração e $[Glucose]$ é a concentração de glucose preparada.

N. Densidade Ótica obtida para a Determinação da Concentração de Açúcares Totais na Baba

Nesta secção apresentam-se os valores das densidades óticas, obtidos a 490 nm através do espectrofotómetro *Unicam Helios γ*, para determinação da concentração de açúcares totais aos ensaios baba de caracol filtrada e purificada, denominados por (EBCF).

Encontram-se, também, os dados das densidade óticas, obtidos através do espectrofotómetro *Unicam Helios γ*, para determinação da concentração de açúcares totais dos ensaios de baba de caracol obtidos pelo processo de extração por sucção de baba a cada espécime para realização de análises físico/químicas, identificadas por (EB).

Na Tabela N.1 são descritas as densidades óticas e respectivas diluições realizadas para determinação de açúcares totais nas amostras de baba de caracol, denominados por (EBCF).

Tabela N.1 – Valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respectivas diluições, realizadas em triplicado, dos ensaios de baba identificados por (EBCF).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (490 nm)	Diluição
EBCF2	1	0,584	1:3
	2	0,580	1:3
	3	0,586	1:3
EBCF3	1	0,468	1:1
	2	0,463	1:1
	3	0,477	1:1
EBCF4	1	0,318	1:1
	2	0,315	1:1
	3	0,291	1:1
EBCF5	1	0,501	1:1
	2	0,501	1:1
	3	0,489	1:1
EBCF6	1	0,408	1:1
	2	0,399	1:1
	3	0,408	1:1
EBCF7	1	0,108	1:1
	2	0,105	1:1
	3	0,111	1:1
EBCF8	1	0,303	1:1
	2	0,298	1:1
	3	0,309	1:1
EBCF9	1	0,558	1:1
	2	0,564	1:1
	3	0,558	1:1
EBCF10	1	0,456	1:3
	2	0,459	1:3
	3	0,465	1:3
EBCF11	1	0,610	1:1
	2	0,615	1:1
	3	0,617	1:1
EBCF12	1	0,627	1:1
	2	0,620	1:1
	3	0,621	1:1
EBCF13	1	0,291	1:1
	2	0,295	1:1
	3	0,303	1:1
EBCF14	1	0,490	1:3
	2	0,493	1:3
	3	Amostra de baba insuficiente para medição	
EBCF15	1	0,294	1:1
	2	0,308	1:1
	3	0,297	1:1

Tabela N.1 – Valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respetivas diluições, realizadas em triplicado, dos ensaios de baba identificados por (EBCF) (continuação).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (490 nm)	Diluição
EBCF16	1	0,314	1:1
	2	0,306	1:1
	3	0,318	1:1
EBCF17	1	0,201	1:1
	2	0,197	1:1
	3	0,198	1:1
EBCF18	1	0,725	1:1
	2	0,692	1:1
	3	0,711	1:1
EBCF19	1	0,572	1:1
	2	0,554	1:1
	3	0,578	1:1
EBCF20	1	0,612	1:1
	2	0,627	1:1
	3	0,602	1:1
EBCF21	1	0,365	1:1
	2	0,400	1:1
	3	0,400	1:1
EBCF22	1	0,593	1:1
	2	0,605	1:1
	3	0,597	1:1
EBCF23	1	0,153	1:1
	2	0,158	1:1
	3	0,150	1:1
EBCF24	1	0,881	1:1
	2	0,893	1:1
	3	0,861	1:1
EBCF25	1	0,417	1:1
	2	0,425	1:1
	3	0,431	1:1
EBCF26	1	0,421	1:1
	2	0,430	1:1
	3	0,427	1:1
EBCF27	1	0,430	1:1
	2	0,423	1:1
	3	0,421	1:1
EBCF28	1	0,373	1:1
	2	0,375	1:1
	3	0,368	1:1
EBCF29	1	0,288	1:1
	2	0,289	1:1
	3	0,296	1:1
EBCF30	1	0,125	1:1
	2	0,136	1:1
	3	0,136	1:1

As diluições efetuadas para os valores da Tabela N.1 foram realizadas de modo aos valores das densidades óticas obtidos se encontrarem na gama de valores da curva de calibração apresentada no anexo M. As leituras das densidades óticas foram realizadas em triplicado.

O ensaio denominado por (EBCF14) não apresentava um volume suficiente para realização da terceira medição da densidade ótica no espectrofotómetro *Unicam Helios γ*. Na Tabela N.2 apresentam-se os valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respetivas diluições realizadas para as amostras de baba, obtidas pelo processo de extração por sucção de baba a cada espécime, identificadas por (EB).

Tabela N.2 – Valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respetivas diluições, realizadas em duplicado, dos ensaios de baba identificados por (EB).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (490 nm)	Diluição
EB1	1	0,191	1:5
	2	0,189	1:5
EB2	1	0,191	1:5
	2	0,193	1:5
EB3	1	0,189	1:5
	2	0,182	1:5
EB4	1	0,304	1:1
	2	0,297	1:1
EB5	1	0,210	1:1
	2	0,205	1:1
EB6	1	0,195	1:1
	2	0,187	1:1
EB9	1	0,201	1:5
	2	0,194	1:5
EB10	1	0,360	1:1
	2	0,366	1:1
EB11	1	0,185	1:5
	2	0,186	1:5
EB12	1	0,192	1:5
	2	0,194	1:5
EB13	1	0,357	1:1
	2	0,346	1:1
EB14	1	0,105	1:5
	2	0,111	1:5
EB15	1	0,184	1:5
	2	0,170	1:5
EB18	35	0,168	1:5
	36	0,177	1:5
EB19	37	0,110	1:5
	38	0,114	1:5
EB20	39	0,390	1:1
	40	0,384	1:1
EB21	41	0,250	1:1
	42	0,254	1:1
EB22	43	0,305	1:1
	44	0,298	1:1

Tabela N.2 – Valores das densidades óticas para determinação de açúcares totais na baba de caracol e respectivas diluições, realizadas em duplicado, dos ensaios de baba identificados por (EB) (continuação).

Ensaio	Nº de amostras	D. O. (490 nm)	Diluição
EB23	45	0,192	1:1
	46	0,191	1:1
EB24	47	0,284	1:1
	48	0,295	1:1
EB25	49	0,115	1:5
	50	0,119	1:5
EB26	51	0,217	1:5
	52	0,193	1:5
EB27	53	0,402	1:1
	54	0,390	1:1
EB29	57	0,180	1:5
	58	0,182	1:5
EB30	59	0,117	1:5
	60	0,110	1:5

As leituras das densidades óticas foram realizadas em duplicado por défice de volume de baba produzida. As densidades óticas dos ensaios (EB7) e (EB8) (EB16), (EB17) e (EB28) não foram passíveis de realizar, visto que a baba em cada um dos ensaios apresentava uma viscosidade muito elevada face à sucção da micropipeta, não sendo viável a medição do seu volume.

O. Valores do Tempo de Escoamento no Viscosímetro Capilar

Na Tabela O.1 apresentam-se os valores do tempo de escoamento para cada viscosímetro utilizado, com o volume de 6,5 mL do conjunto de amostras de baba de caracol utilizados anteriormente nos picnómetros, a diferentes temperaturas, obtidos por sucção com administração de água destilada durante o processo de extração, identificados por (EAHS).

Tabela O.1 – Valores da temperatura e tempo de escoamento para o conjunto de amostras de baba, identificados por (EAHS), a diferentes temperaturas, para cada viscosímetro capilar utilizado.

T (°C)	Conjunto dos primeiros quinze ensaios		Conjunto dos dezasseis a trinta ensaios	
	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)
15,0	13470/50	406	13470/50	434
		405		429
		403		424
	13478/50	413	13478/50	436
		406		433
		403		427
		355		378
20,0	13470/50	353	13470/50	378
		352		377
		359		375
	13478/50	354	13478/50	375
		354		375
		354		375
		354		375

Tabela O.1 – Valores da temperatura e tempo de escoamento para o conjunto de amostras de baba, identificados por (EAHS), a diferentes temperaturas, para cada viscosímetro capilar utilizado (continuação).

T (°C)	Conjunto dos primeiros quinze ensaios		Conjunto dos dezasseis a trinta ensaios	
	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)
25,0	13470/50	311	13470/50	331
		311		332
		312		331
	13478/50	311	13478/50	332
		312		332
		311		330
30,0	13470/50	278	13470/50	294
		279		294
		279		292
	13478/50	277	13478/50	292
		277		291
		277		290
35,0	13470/50	248	13470/50	262
		248		262
		248		261
	13478/50	246	13478/50	260
		245		260
		245		262

Realizaram-se medições em triplicado em cada viscosímetro, a cada temperatura estabelecida. Observa-se na Tabela O.1 que o tempo de escoamento diminui com o aumento da temperatura.

Na Tabela O.2 são apresentados os valores do número do viscosímetro e tempo de escoamento em triplicado para o volume de 6,5 mL do conjunto de amostras de baba de caracol utilizados anteriormente nos picnómetros, à temperatura de 15°C, após o processo de purificação por centrifugação e filtração, identificados por (EBCF).

Tabela O.2 – Valores da temperatura e tempo de escoamento para o conjunto de amostras de baba, identificados por (EBCF), a diferentes temperaturas, para cada viscosímetro capilar utilizado.

T (°C)	Conjunto dos primeiros catorze ensaios		Conjunto dos dezasseis a trinta ensaios	
	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)
15,0	13470/50	328	13470/50	320
		328		322
		327		320
	13478/50	312	13478/50	311
		314		309
		313		308
20,0	13470/50	292	13470/50	280
		292		279
		291		279
	13478/50	280	13478/50	270
		280		269
		280		269

Tabela O.2 – Valores da temperatura e tempo de escoamento para o conjunto de amostras de baba, identificados por (EBCF), a diferentes temperaturas, para cada viscosímetro capilar utilizado (continuação).

T (°C)	Conjunto dos primeiros catorze ensaios		Conjunto dos dezasseis a trinta ensaios	
	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)	Nº de referência do viscosímetro	Tempo de escoamento (s)
25,0	13470/50	259	13470/50	250
		259		250
		257		250
	13478/50	248	13478/50	241
		248		241
		248		241
30,0	13470/50	227	13470/50	223
		227		223
		228		223
	13478/50	218	13478/50	214
		218		215
		219		215
35,0	13470/50	206	13470/50	199
		207		200
		208		199
	13478/50	198	13478/50	192
		199		192
		200		192

Os primeiros catorze ensaios não contemplam o volume do ensaio (EBCF1), visto que não foi possível recuperar essa amostra após o processo de filtração, tal como já referido anteriormente.

P. Preparação do Excipiente utilizado nos Produtos de Cosmética

Para determinação da massa total de excipiente necessária para incorporação nos produtos de cosmética, de acordo com a bibliografia (Abad,1996; Wang *et al.*, 2010), foram transformados os volumes descritos na literatura para as respetivas massas, utilizando os valores de massa volúmica apresentados no anexo A. Após a determinação do valor da massa de cada reagente, realizou-se o somatório dessas massas que constituem a preparação do excipiente, apresentando um valor total obtido de 98,9 g. Como foi estipulada a preparação de três produtos de cosmética, seria necessário a preparação de 550 g de excipiente, segundo a mesma literatura mencionada.

Preparou-se 600 g de excipiente, admitindo que existiriam perdas na transferência entre os diferentes materiais utilizados, para posterior preparação dos produtos de cosmética.

A preparação de 600 g de excipiente utilizados na preparação dos produtos de cosmética teve como base a realização de 98,9 g de excipiente, encontrando-se descrita posteriormente neste anexo, de acordo com a bibliografia consultada (Abad,1996; Wang *et al.*, 2010).

Na Tabela P.1 apresentam-se os valores mássicos e volumétricos de cada reagente necessário na realização de 600 g de excipiente e respetivos valores utilizados na preparação do excipiente.

Tabela P.1 – Valores necessários e utilizados para preparação do excipiente, para preparação nos produtos de cosmética.

Reagente	Massa necessária (g)	Massa utilizada (g)	Volume necessário (mL)	Volume utilizado (mL)
Álcool cetílico	91,0010	91,0016	-	-
PEG 400	-	-	132,71	132,7
PEG 1500	3,0334	3,0336	-	-
PEG 4000	150,1517	150,1521	-	-
Água destilada (a adicionar à mistura PEG)	-	-	1,52	1,5
Monoestearato de Glicerol	30,3337	30,3349	-	-
Água destilada (a adicionar ao monoestearato)	-	-	76,59	76,6
Carbonato de Cálcio	42,4671	42,4676	-	-
Óxido de Zinco	2,4267	2,4270	-	-
Parafina líquida	-	-	60,67	60,7

Preparação do Excipiente

A preparação do excipiente foi realizada previamente à preparação dos produtos de cosmética. Num gobelé de 250 mL pesou-se 91,0016 g de álcool cetílico numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*). Essa massa foi transferida para um gobelé de 1 L, onde se efetuou um processo de fusão padrão do álcool, colocando o gobelé sobre uma placa de aquecimento (*IKAMAG RH*) em banho-maria dentro de um gobelé de 2 L com água até se atingir a temperatura de 49°C (Rowe *et al.*, 2009), temperatura medida num termómetro de mercúrio (100°C \pm 0,5°C).

Num gobelé de 100 mL pesou-se 3,0336 g de polietilenoglicol (PEG) 1500 e transferiu-se para um gobelé de 1 L. Num gobelé de 250 mL pesou-se 150,1521 g de PEG 4000 e transferiu-se para o mesmo gobelé de 1 L contendo o PEG 1500. Com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 100 mL \pm 0,075 mL, uma pipeta volumétrica de 20 mL \pm 0,038 mL e uma pipeta graduada de 10 mL \pm 0,05 mL pipetou-se o volume no valor de 132,7 mL, de PEG 400, sendo o volume transferido para o mesmo gobelé de 1 L contendo as massas de PEG 1500 e de PEG 4000.

Foi, ainda, adicionado à mistura o volume de 1,5 mL de água destilada, com uma pipeta graduada (5 mL \pm 0,05 mL). Colocou-se a mistura num banho-maria a 49°C, para promover a homogeneidade da mistura. Foi aquecida a esta temperatura para que não ocorresse um choque térmico quando adicionada ao álcool cetílico, que se encontrava à temperatura de 49°C. À mistura de PEG com álcool cetílico designou-se 1ª mistura, que foi colocada num agitador laboratorial. Num gobelé de 250 ml pesou-se 30,3349 g de monoestearato de glicerol numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*) e transferiu-se essa massa para um gobelé de 1 L com auxílio de uma vareta de vidro. Realizou-se um processo de fusão do monoestearato de glicerol a uma temperatura de 80°C, idêntica à fusão do álcool cetílico, já referida nesta secção.

Após a fusão do monoestearato, adicionou-se o volume de 76,6 mL água destilada, previamente aquecida a 80°C, com auxílio de uma pipeta volumétrica de 25 mL \pm 0,038 mL e uma pipeta graduada de 5 mL \pm 0,05 mL. Esta solução aquosa de monoestearato de glicerol designou-se por 2º mistura. Deixou-se arrefecer a 2º mistura à temperatura ambiente. Quando a 2º mistura atingiu a mesma temperatura da 1º mistura, transferiu-se a 2º mistura para o gobelé da 1º mistura. Pesou-se 42,4676 g de carbonato de cálcio e 2,4270 g de óxido de zinco, numa balança de precisão (*Mettler Toledo AG204*) em dois gobelés de 100 mL. Com agitação constante, adicionou-se a massa de carbonato de cálcio e a massa de óxido de zinco à nova mistura. Por fim, pipetou-se um volume de 60,7 mL de parafina líquida com auxílio de uma pipeta volumétrica de 25 mL \pm 0,038 e com o auxílio de uma pipeta graduada de 20 mL \pm 0,1 mL para o gobelé de 1 L em agitação. Obteve-se um excipiente de 600,0135 g. A preparação do excipiente teve como base a bibliografia consultada (Abad, 1996; Wang et al, 2010).

Q. Valores de Preparação dos três Produto de cosmética

Nesta seção apresentam-se os valores de preparação de um creme nutritivo de mãos, de um líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa e de um creme antirrugas, tendo como base a literatura (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010). A baba utilizada na preparação dos produtos de cosmética proveio do conjunto de amostras (EBCF2) a (EBCF15), após análise das propriedades físico/químicas das amostras de baba de caracol obtidas. A determinação dos valores das massas e volumes de baba utilizada no processo de preparação de cada produto de cosmética teve como base a massa volúmica determinada para o mesmo conjunto de ensaios, visto não terem sido verificados dados bibliográficos para a massa volúmica da baba de caracol.

Preparação de um creme nutritivo de mãos

Considerando a água destilada contida nas amostras de baba de caracol utilizadas, obteve-se uma massa de baba de caracol necessária adicionar ao creme nutritivo de mãos de 7,9349 g. Na Tabela Q.1 apresentam-se os valores das massas e volumes utilizados na preparação de um creme nutritivo de mãos, com base na bibliografia consultada (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010), tendo em conta a água destilada contida nas amostras de baba de caracol.

Tabela Q.1 – Valores das massas e volumes utilizados na preparação de um creme nutritivo de mãos, considerando a água destilada contida nas amostras de baba, com base na elaboração apresentada na literatura (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Reagente	Massa de reagente pesada (g)	Volume de reagente pipetado (mL)
Baba de caracol	7,9402	-
Glicerina	-	4,0
Lanolina	0,5011	-
Excipiente	100,03	-

Preparação de um líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa

Considerando a água destilada contida nas amostras de baba de caracol utilizadas, provenientes do conjunto de ensaios (EBCF2) a (EBCF15), obteve-se um volume de baba de caracol necessária adicionar ao líquido hidratante para limpeza de pele normal ou oleosa de 31,75 mL.

Na Tabela Q.2 apresentam-se os valores das massas e volumes utilizados na preparação de um líquido hidratante, considerando a água destilada presente nas amostras de baba de caracol utilizadas, com base na bibliografia consultada (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Tabela Q.2 – Valores das massas e volumes utilizados na preparação de um líquido hidratante, considerando a água destilada nas amostras de baba, com base na elaboração apresentada por Abad e Wang (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Reagente	Massa de reagente pesada (g)	Volume de reagente pipetado (mL)
Alúmen de potássio	0,3010	-
Baba de Caracol	-	31,8
Água de rosas	-	10
Excipiente	200,05	-

Preparação de um Creme Antirrugas

Considerando a água destilada contida nas amostras de baba de caracol utilizadas na preparação de um creme antirrugas, obteve-se um volume de baba necessária de 7,94 mL.

Na Tabela Q.3 apresentam-se os valores das massas e volumes utilizados na preparação de um creme antirrugas, considerando a água destilada presente nas amostras de baba de caracol utilizadas, com base na bibliografia consultada (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Tabela Q.3 – Valores das massas e volumes utilizados para preparação de um creme antirrugas, considerando a água destilada nas amostras de baba, com base na elaboração apresentada por Abad e Wang (Abad, 1996; Wang *et al.*, 2010).

Reagente	Massa de reagente pesada (g)	Volume de reagente pipetado (mL)
Alúmen de potássio	1,5613	-
Excipiente	250,02	-
Baba de Caracol	-	8,0
Lanolina	7,01	-